

DER EINFLUSS VON UVA- UND
UVB- GANZKÖRPERBESTRAHLUNG AUF 2 - 3
DIPHOSPHOGLYCERAT, PYRUVATKINASE UND
PHOSPHOFRUKTOKINASE DES ERYTHROZYTEN

RAINER STEINHARD

1987

Disbui. München

1987



Aus dem Institut für Medizinische Balneologie und
Klimatologie der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. med. E. Senn

**DER EINFLUSS VON UVA- UND UVB - GANZKÖRPERBESTRAHLUNG
AUF 2 - 3 DIPHOSPHOGLYCERAT, PYRUVATKINASE
UND PHOSPHOFRUKTOKINASE
DES ERYTHROZYTEN**

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Rainer Steinhard

aus

München

1987

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. W. Schnizer

Mitberichterstatter: Priv. Doz. Dr. Dr. H. Pratzel

Dekan: Prof. Dr. med. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 19. November 1987

Inhaltsverzeichnis

<u>I. Einführung</u>	1
1. Vorbemerkung	1
2. Fragestellung	2
3. Einleitung	3
3.1. Die UV-Strahlung und Bestrahlung	3
3.1.1. Eigenschaften und Einteilung	3
3.1.2. Künstliche Lichtquellen (UV)	5
3.1.3. Die optischen Eigenschaften der Haut	6
3.1.3.1. Die Pigmentation	7
3.1.3.2. Die Absorption von UV-Strahlung	7
3.1.3.3. Die Erythembildung	8
3.2. Calciferole	9
3.2.1. Vitamin D: ein Hormon	9
3.2.2. Synthese und Metabolismus	9
3.2.3. UV-Strahlung und Cholecalciferole	11
3.2.4. Wirkung und Einfluß der Calciferole	12
3.3. Calcium- und anorganischer Phosphatmetabolismus	13
3.4. Das 2-3Diphosphoglycerat (2-3DPG)	14
3.4.1. 2-3DPG und die Erythrozytenfunktion	15
3.4.2. Physiologische Bedeutung	16
3.4.3. Synthese und Metabolismus	17
3.4.4. 2-3DPG und Phosphat	18
3.5. Phosphofruktokinase (PFK) und Pyruvatkinase (PK)	19
3.5.1. Einfluß von Phosphat	19
3.5.2. Das Prinzip der enzymatischen Analyse	20

<u>II. Material und Methoden</u>	21
1. Die UV-Bestrahlung	21
1.1. Das UVA-Bestrahlungsgerät	21
1.2. Die UVA-Dosiswahl	22
1.3. Das UVB-Bestrahlungsgerät	22
1.4. Die MED-Bestimmung	23
1.5. Die UVB-Dosiswahl	24
2. Die Versuchspersonen	25
3. Die Probengewinnung	27
3.1. Die Blutabnahme	27
3.2. Der Transport	27
4. Die Labormethoden	28
4.1. Die Enzymmessung	28
4.1.1. Bestimmung der Kinetik	28
4.1.2. Einflußgrößen auf die Enzymbestimmung	29
4.1.3. Aktivitätseinheiten und ihre Berechnung	29
4.2. Bestimmung des 2-3DPG	30
4.3. Bestimmung der Phosphofruktokinase und der Pyruvatkinase (PFK und PK)	32
4.4. Bestimmung des anorganischen Phosphor im Serum	33
4.5. Bestimmung des Calcium im Serum	34
4.6. Bestimmung des Hämoglobins	34
5. Die Versuchsanordnung	35
6. Die Ergebnisberechnung und die Statistik	36
<u>III. Ergebnisse</u>	37
1. 2-3DPG-Werte	37
2. Pyruvatkinasewerte	43
3. Phosphofruktokinasewerte	49
4. Anorganischer Phosphor	55
5. Calcium	61

IV. Diskussion 67

1. Die Calciferole 68

2. Der Erythrozytenmetabolismus 73

V. Literaturverzeichnis 79

Abkürzungen

ADP	Adenosin-di-phosphat
ATP	Adenosin-tri-phosphat
Ca	Serum-Calcium
2-3DPG	2,3-Diphospho-Glycerat
MED	minimale erytheme Dosis
P	Serum-Phosphor
PFK	Phosphofrukto-Kinase
PK	Pyruvat-Kinase
σ	Standardabweichung
UV	Ultraviolett
VP	Versuchsperson

I. Einführung

1. Vorbemerkung

Neben der wissenschaftlichen Erforschung der elementaren Bedeutung des Lichtes für den Stoffwechsel der Pflanzen, waren dessen direkte Einflüsse auf den Menschen lange Zeit eher von untergeordnetem wissenschaftlichen Interesse. HOLLWICH (1950) faßte die bisherigen Erkenntnisse seiner Zeit zusammen und folgerte bei Mensch und Tier eine Einwirkung des Lichtes auf vegetative Funktionen über die Sehbahnen und über das zentralnervöse Steuersystem.

Die Rolle der UV-Strahlung für den Vitamin-D-Stoffwechsel wurde bereits 1938 von WINDHAUS angenommen, was jedoch erst Jahre später endgültig bewiesen wurde.

In den letzten Jahren zeigte eine Arbeit von ROEDIGER et. al. (1984), daß UV-Strahlung beim Menschen zu einer Zunahme des Sauerstoffpulses und zu einer Abnahme des Atemäquivalents führte, was die Autoren, sich beziehend auf eine Arbeit von HUMPELER et. al. (1982), einer verbesserten Sauerstoffabgabe in der Peripherie zuschrieben.

Ebenfalls auf diesem von HUMPELER et. al. (1982) angenommenen Mechanismus basiert das Ziel unserer Untersuchung. Dabei wird von einem direkten Zusammenhang zwischen UV-Strahlung, Vitamin-D-Stoffwechsel, Calcium- bzw. Phosphatspiegel im Serum, dem Stoffwechsel des Erythrozyten und der Sauerstoffbindungskurve ausgegangen bzw. dieser postuliert.

Durch die Entwicklung eines selektiven UVA-Gerätes, wo die UVB-Reststrahlung fast vollkommen ausgefiltert werden kann, konnte in unserer Fragestellung darüber hinaus zwischen verschiedenen UV-Bereichen differenziert werden.

2. Fragestellung

Die hier vorgestellte Untersuchung basiert auf folgender Fragestellung:

- Kommt es durch einzelne und serielle Bestrahlung mit UVA und UVB bei gesunden Probanden zu Veränderungen im Glycolysestoffwechsel der Erythrozyten?
- Bestehen zwischen den beiden Bestrahlungsarten unterschiedliche Wirkungen?
- Besteht insbesondere ein Zusammenhang zwischen UV-Strahlung und 2-3 Diphosphoglycerat und kann eine erhöhte erythrozytäre Sauerstoff-Abgabe erwartet werden?
- Lassen sich die Resultate einordnen in die Bezüge von UV-Strahlung, Vitamin-D-Stoffwechsel, Calcium- und Phosphathomöostase?

3. Einleitung

3.1. Die UV-Strahlung und Bestrahlung

3.1.1. Eigenschaften und Einteilung

Ein bedeutender Teil der elektromagnetischen Strahlung der Sonne, die auf die Erde trifft, ist die Ultraviolettstrahlung. Sie liegt zwischen der radioaktiven Strahlung und dem sichtbaren Licht in einem Bereich von 80 - 400 nm und ist im Vergleich mit den anderen Bereichen hauptsächlich für photochemische Reaktionen verantwortlich. Aufgrund unterschiedlicher phänomenologischer Eigenschaften wird diese Strahlung in die Bereiche UVA, UVB und UVC eingeteilt, wobei die Grenzen willkürlich gezogen wurden. So existieren bislang in der gängigen Literatur keine einheitlichen Übereinkünfte über die Breite der einzelnen Bereiche. In dieser Arbeit wird Bezug auf die "Empfehlung für die Gesamtbestrahlungsstärke und die spektrale Verteilung künstlicher Sonnenstrahlung für Prüfzwecke" der COMMISSION INTERN. DE ECLAIRAGE (1972) genommen. Nach ihr liegen die Bereiche folgendermaßen:

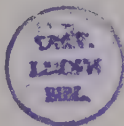
UVA: 315 - 400 nm

UVB: 280 - 315 nm

UVC: < 280 nm

Global wirken sich die unterschiedlichen Bereiche am Organismus folgendermaßen aus (nach PARRISH 1978):

- UVC: erzeugt eine Photokeratitis der Cornea und tötet Eizellen sehr effektiv ab. Dieser Bereich ist für unsere Untersuchung nichtrelevant.
- UVB: ist hauptsächlich zuständig für die Entzündung des Sonnenbrandes und für Zellveränderungen im Zellkern sowie deren Reparaturmechanismen.



- UVA: führt erst in wesentlich höherer Dosierung als UVR zu einer Entzündungsreaktion der Haut. Weiter ist dieser Bereich zwar nicht keimtötend, wirkt sich jedoch additiv bzw. potenzierend auf UVR bzw. dessen Pigmentdunkelung aus.

EVERETT et. al. (1978) wiesen eine Eindringtiefe der UVA-Strahlung über die Epidermis hinaus nach.

Abb. I.1. nach NASEMANN et. al. (1981) gibt übersichtlich die einzelnen UV-Bereiche mit ihrer Wirkung auf die Haut wieder. Auf bestimmte für unsere Arbeit relevante Wirkungen wird im Kapitel über die optischen Eigenschaften der Haut näher eingegangen.

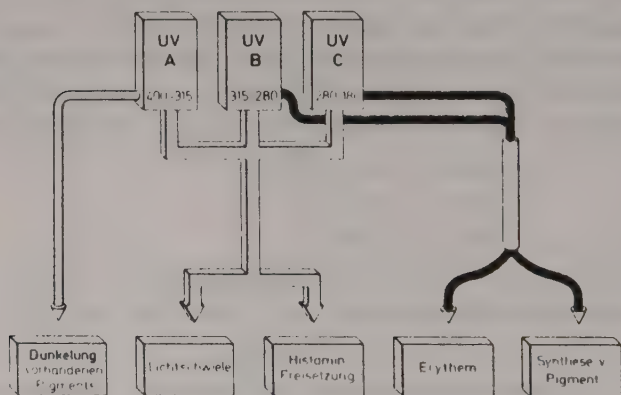


Abb. I.1. Die UV-Bereiche und ihre allgemeine Wirkung auf die Haut (nach NASEMANN et. al. 1981).

3.1.2. Künstliche Lichtquellen

Ein großer experimenteller Fortschritt brachte die Erfindung künstlicher UV-Strahler, da die natürliche Strahlung durch Faktoren wie der Neigungswinkel der Sonne, der Anteil des Ozons in der Atmosphäre, Wolken, und tages- bzw. jahrezeitliche Schwankungen modifiziert wird (PARRISH 1978, CIE 1972). So kann auf diese Weise eine einheitliche, reproduzierbare Bestrahlung erfolgen. Grundsätzlich stehen drei verschiedene Arten von künstlichen Strahlungsquellen zur Verfügung:

Die erste und wichtigste Art sind die Gasentladungslampen. Durch einen Lichtbogen zwischen zwei Elektroden werden Elektronen so weit beschleunigt, daß sie Quecksilbermoleküle, die die Lampe in Dampfform enthält, ionisieren. Nachdem diese sofort wieder in ihren alten Zustand zurückkehren, wird Energie in Form von elektromagnetischen Wellen frei. Durch unterschiedlichen Druck in der Lampe kann die spektrale Emission verschoben werden. Je höher der Druck ist, um so weiter verschiebt sich das Spektrum nach rechts in den höherwelligen Bereich. Zur künstlichen UV-Bestrahlung werden hauptsächlich Quecksilberdampflampen mit einem hohen Anteil der Wellenlänge zwischen 250 - 400 nm verwendet.

Eine Modifikation dieser Lichtquelle stellt die Fluoreszenzlampe dar, bei der die tiefen Emissionsbereiche um 250 nm durch einen Phosphormantel an der Lampe in höhere Bereiche umgewandelt werden.

So sind Gasentladungslampen vor allem auch zur gleichmäßigen Bestrahlung größerer Flächen geeignet.

Die beiden anderen Arten zur Erzeugung von UV-Strahlung sind einerseits die Weißlichtlampen, eine wenig effektive Strahlungsquelle auf der Basis der Elektronenanregung, und andererseits die Erzeugung von monochromatischem Licht durch Laser (zusammengefaßt nach PARRISH 1978).

Ein bis vor kurzer Zeit technisch unzureichend gelöstes Problem stellte die Herstellung selektiver UVA-Strahler dar, da der erythemwirksame UVB-Bereich nur durch Filter, die für gewisse UVB-Reststrahlung durchlässig waren, gemindert werden konnte.

Einen entscheidenden Fortschritt brachte ein von der Firma Mutzhas und Co., München, entwickeltes Gerät, der UVASUN 2000 für lokale Bestrahlung, dessen Nachfolger für Ganzkörperbestrahlung (UVASUN 30000) in unserer Arbeit verwendet wurde. Hier wird auf dem Prinzip der Gasentladung von Anfang an durch ein spezielles Halogen-gemisch ein extrem niedriger UVB-Anteil erzeugt, der quantitativ leicht auszufiltern war (MITTHAS et. al. 1982).

3.1.3. Die optischen Eigenschaften der Haut

Durch das Auftreffen der Strahlung auf die Haut und Eindringen in eine bestimmte Tiefe werden durch deren Absorption bestimmte biologische Effekte in Gang gesetzt. In unserem Fall ist es von Wichtigkeit, den UV-abhängigen Reaktionsschritt der Vitamin-D-Synthese durch eine geeignete Wellenlänge zu treffen.

Durch den Kontakt der Strahlung mit der Haut unterliegt diese einer Reihe von physikalischen Modifikationen, die in direkte und indirekte Reflexion, Streuung beispielsweise durch Partikel, Absorption und Transmission zusammengefaßt werden. Ferner existiert eine Abhängigkeit der Eindringtiefe von der Wellenlänge dahin, daß kürzere Wellen weniger tief eindringen. Durch Streuung kann aber auch, als eine Funktion von auftreffender Wellenlänge und Größe der getroffenen Moleküle, die effektive Bestrahlungswellenlänge vergrößert werden (zusammengefaßt nach PARRISH 1978).

3.1.3.1. Die Pigmentation

Der biologisch wichtige Mechanismus der Absorption von UV-Strahlung, der als 100 % minus gesamte spektrale Transmission und gesamte spektrale Reflexion angegeben wird, wird durch Pigmentsubstanzen verursacht. Dabei ist hauptsächlich die Konzentration des Melanins daran beteiligt. Jenes wird durch die Melanozyten in den basalen Anteilen der Epidermis erzeugt und als Melaningranula (Melanosomen) in die höhergelegenen Zellen bis in das Stratum corneum transportiert. Den größten Anteil der Absorption übernimmt das Melanin im Stratum corneum (nach BRAUN-FALCO 1984). So hat zwar das Melanin in individuell verschiedener Konzentration einen signifikanten Effekt auf die Abschwächung der Transmission von Strahlung im Bereich von 250 - 700 nm (KLIGMAN 1969), nach STAMP (1975) hat jedoch bei Ganzkörperbestrahlung die Pigmentation keinen Einfluß auf die Vitamin-D-Antwort. Somit war auch die Fragestellung nach der Summation des möglichen Effektes gerechtfertigt.

3.1.3.2. Die Absorption von UV-Strahlung

Untersuchungen von LVERETT et. al. (1966) am Stratum corneum ergaben, daß 30 - 50 % der UVA-Strahlung durch dieses in die basalen Anteile der Epidermis und weiter in die Dermis dringen, also in die Anteile, in denen sich die für uns interessanten biologischen Aktivitäten des Vitamin-D-Stoffwechsels abspielen. Dasselbe gilt in etwa auch für die UVB-Strahlung.

Aus Abb. I.2. ist die jeweilige Absorption bzw. Transmission der einzelnen Epidermischichten in bezug auf die Wellenlänge aufgeführt.

Wellenlänge nm	Stratum corneum	Stratum malpighii	Gesamt- Epidermis	%Trans- mission
248	8.0	5.7	6.3	
254	8.0	5.4	6.1	0.030
258	7.3	5.2	5.8	
265	6.1	5.2	5.5	
270	5.8	5.3	5.4	0.012
275	5.5	5.5	5.5	
280	5.5	6.0	5.8	0.024
290	7.2	8.7	8.2	0.27
297	9.9	14.8	12.7	2.40
302	12.3	19.7	16.4	
313	17.1	22.5	20.4	9.50
334	26.2	23.6	24.5	
365	31	28	29	19
405	38	37	37	
436	43	46	45	34
546	60	68	66	48

Tab. 1: Durchschnittliche Halbwertsdicken der Hornschicht, des Stratum malpighii und der Gesamt-epidermis in μm und die Standard-Transmission einer 70 μm dicken Epidermis mit 20 μm Hornschicht bei verschiedenen Wellenlängen (nach BRULS und van der LEUN, (1982).

3.1.3.3. Die Erythembildung

Eine weitere UV-Wirkung auf die Haut ist die Erythem-bildung, deren exakter Mechanismus bis heute soweit nicht geklärt ist.

Zu unterscheiden ist ein Sofort- von einem Spät erythem. Am ehesten scheinen bestimmte Mediatoren wie beispielsweise das Serotonin (VANINGA und DE RAFFR 1968) beteiligt zu sein, das eher bei hoher UVA-Bestrahlung vorkommt. Wie aus dem Namen ersichtlich ist, tritt ersteres unmittelbar nach Bestrahlung auf und verschwindet innerhalb von Minuten wieder.

Das Spät- oder verzögerte Erythem tritt mit einer Latenz von ein bis acht Stunden auf. Das Maximum liegt nach OLSON (1966) bei 12 - 24 Stunden.

In unserer Arbeit wurde dieser Mechanismus als Indikator der effektiven quantitativen Bestrahlungsstärke im UVB-Bereich verwendet.

3.2. Calciferole (Vitamin D)

Die Calciferole entsprechen Stoffwechselprodukten, die entweder als Cholecalciferol dem Körper oral zugeführt und in andere wirksame Produkte umgewandelt oder vom Körper direkt synthetisiert werden.

3.2.1. Vitamin D: ein Hormon

In neuester Zeit wurde allgemein immer häufiger propagiert, Vitamin-D-Stoffwechselprodukte in ihrer Eigenschaft nicht mehr als Vitamine, sondern als Hormone zu bezeichnen. So sollte das Vitamin D₃ als Cholecalciferol, das 25-(OH)D₃ als 25-hydroxy-Cholecalciferol (oder Calcidiol) und das 1,25-(OH)D₃ als 1,25-dihydroxy-Cholecalciferol (oder Calcitriol) umbenannt werden (KARLSON 1983). KARLSON gibt zusammengefaßt als Gründe an, daß die Calciferole hormoncharakteristische Produkte eines speziellen Organs sind und als homöostatische Wirkung Einfluß auf den Calcium- und Phosphorstoffwechsel besitzen. ferner wird die Produktion von Calcitriol durch ein Enzym gesteuert, das wiederum einer Reihe von rückgekoppelten Einflüssen unterliegt. Außerdem induziert charakteristischerweise das Calcitriol die Proteinsynthese von einem calcium-binding-protein im Dünndarm.

3.2.2. Synthese und Metabolismus

Nach HADDAD JR. et. al. (1973) werden etwa 80 % des Cholecalciferolbedarfes über die Haut gedeckt. Vorstufe der Cholecalciferole ist das 7-Dehydrocholesterin, das aus Cholesterin aufgebaut wird. Die Umwandlung in Cholecalciferol geschieht in der menschlichen Haut unter dem Einfluß von UV-Licht (siehe Abb. 1.3.).

Die Leber bildet daraus durch Hydroxylierung das 25-hydroxy-Cholecalciferol und die Niere anschließend das 1,25-dihydroxy-Cholecalciferol. Erstere Reaktion

unterliegt einer Produkthemmung, letztere einem umfangreich beeinflussten Rückkoppelungsmechanismus (nach FORD 1983). In Abb. I.4. sehen wir die bis dato gesicherten und diskutierten Faktoren, die auf die 1α -Hydroxylase, die die Umwandlung des Calcidiols zu Calcitriol katalysiert, einwirken.

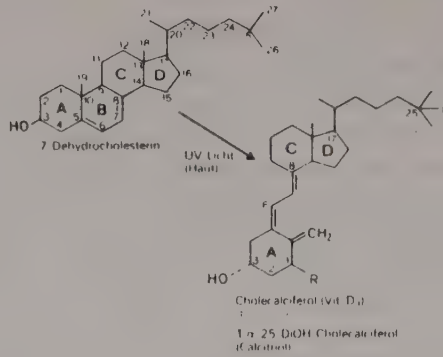


Abb. I.3. Die Bildung von körpereigenem Cholecalciferol (nach FORTH et. al. 1983; S:406)

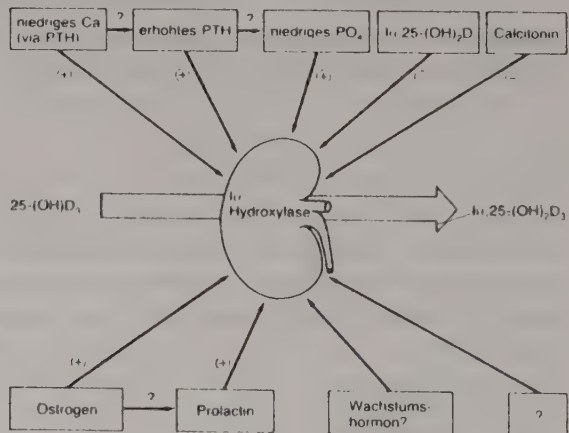


Abb. I.4. Die Regulation der 1α -Hydroxylase in der Niere (nach SIEGENTHALER 1982; S:353)

3.2.3. UV-Strahlung und Cholecalciferole

Wie bereits oben erwähnt, findet der Reaktionsschritt vom 7-Dehydrocholesterol zum Cholecalciferol unter dem Einfluß von UV-Strahlung in der Haut statt, wobei das Optimum bei einer Wellenlänge von 280 - 300 nm liegt. Nach LAWSON et DAVIE (1979) befindet sich der Hauptanteil des 7-Dehydrocholesterols in den untersten Epidermisschichten, im Rete Malpighii, das aus Stratum spinosum und Stratum basale besteht.

Nach Untersuchungen von HOLICK et. al. (1981) erreicht die Bildung von Cholecalciferol in der Haut nach verlängerter Sonnenexposition nach vorläufigem Anstieg ein Plateau, wobei sich ein Gleichgewicht mit dem biologisch unwirksameren Lumisterol und Tachysterol bildet. Das am Ende der Reaktionsschritte gebildete Cholecalciferol wird an ein Protein gebunden und an die Blutbahn für den Ort der weiteren Umwandlung abgegeben.

DAVIE et LAWSON (1979) bestätigten in einer in-vivo-Studie, daß auch die Calcidiolantwort nach etwa 5 - 12 UV-Bestrahlungssitzungen eines 600 cm² großen Hautbezirktes nach anfänglichem Anstieg ein längerdauerndes Plateau erreicht. Insgesamt wurde über 9 - 27 Minuten, innerhalb eines Zeitraumes von 10 - 22 Tagen mit einer Gesamtenergie von 22 W/cm² über die Bereiche $\lambda = 285, 297$ und 303 nm bestrahlt. Die Autoren sind der Meinung, daß sich bei Ganzkörperbestrahlung der Anstieg des Calcidiols über größere Zeiträume erstreckt, bevor ein Plateau erreicht wird, wobei aber die Calcidiolantwort nach der ersten Applikation die höchste ist.

HUMPFLEER et. al. (1982) erreichte mit einer Dosis von 12,2 - 24,5 mJ/cm² bei einem Spektrum von 280 - 350 nm bereits schon nach 4 Stunden einen Anstieg des Calcium- und Phosphorspiegels, der in diesem Fall von den Autoren über die Calcitriolantwort interpretiert wurde.

Wir entschlossen uns, im Anschluß daran in unserer Untersuchung die Versuchspersonen in einem Zeitraum von 4 Stunden bis 2 Wochen nach Bestrahlung zu untersuchen.

OFFERMANN et BIELER (1978) wiesen bei alten Menschen eine pauschale Beziehung zwischen Sonnenexposition und Calcidiolkonzentration im Serum nach, was zugleich mit einem erniedrigten Serum-Calcium und erhöhter alkalischer Phosphatase korrelierte. Schließlich erbrachten Untersuchungen von LUND et. al. (1979) den Nachweis einer direkten Korrelation von Sonnenexposition und Calcidiol. ADAMS et. al. (1982), die in einer Untersuchung die Calciferolantwort nach UV-Bestrahlung an gesunden und Calcitriol-defizienten Personen untersuchten, fanden ein Maximum der Cholecalciferolantwort innerhalb zwei Tagen nach Bestrahlung mit einer Halbwertszeit von 48 Stunden.

3.2.4. Wirkung und Einfluß der Cholecalciferole

Neben ihrer Wirkung zusammen mit Parathormon am Knochen entfalten die Cholecalciferole ihre Hauptwirkung am Darm in der Absorption von Calcium und Phosphat. Dabei wird nach WASSERMANN et. al. (1973) vermehrt ein Calcium-bindendes Protein, das für deren aktive Absorption im Darm zuständig ist, gebildet. MYRTLE et. al. (1970) fanden, daß das Calcitriol etwa 14mal effektiver als das Cholecalciferol und etwa doppelt so effektiv wie das Calcidiol ist.

Gesichert ist ein fein abgestimmtes Zusammenspiel von Calciferolen, Parathormon und Calcitonin, wie später noch näher erläutert wird.

In ihrer Wirksamkeit besitzen die einzelnen Calciferole verschiedene antirachitische Potenzen. Nach FORD et. al. (1983) ist das Calcidiol 2- bis 5mal stärker als das Cholecalciferol und das Calcitriol 2- bis 5mal stärker als ersteres.

3.3. Calcium- und anorganischer Phosphatmetabolismus

Der Calcium- und Phosphatmetabolismus des Menschen ist eng mit dem knöchernen Skelett gekoppelt, da es dessen Reservoir darstellt und einem fein abgestimmten Auf- und Abbaumechanismus unterliegt. Daneben besteht die Aufnahme beider Mineralstoffe durch den Darm und die Regulation der Bilanz durch die aktive Rückresorption in der Niere.

Das Calcium wird mit einem Normalbereich von 9,0 - 10,5 mg/100 ml (2,25 - 2,63 mmol/l) in einem relativ engen Bereich konstant gehalten, wobei 40 % an Proteinen, 5 % an organischen Säuren und 55 % frei bzw. biologisch aktiv vorhanden sind (nach MOORE 1970). Phosphat hingegen unterliegt einem klar circadianen Rhythmus, wobei der tiefste Wert gegen Mittag erreicht wird (BÜNING et. al. 1974).

Das Calcium steht mit dem Phosphat im Verhältnis eines konstanten Produktes, das im Extrazellulärraum durch Calciferole angehoben werden kann. So kann es bei Zuständen der Calciferolintoxikation durch starke Hebung des Ca - P - Produktes zu einer Hypercalciämie kommen (nach SIEGFENTHALER et. al. 1982).

Aber auch bei Calciferol-Mangelzuständen konnte durch dessen Zufuhr über die Hebung des Ca - P - Produktes nach einem Zeitraum von etwa einer Woche die Mineralisation gesteigert werden (HAAS et. al. 1967).

Der Mechanismus, wie Calciferole den Calcium- und Phosphathaushalt reguliert, ist noch nicht ausreichend bekannt. Man diskutiert die Bindung an ein spezielles Cytosolprotein bzw. an spezielle Rezeptoren, was auf die Freisetzung und den Transport bestimmter RNA regulierend wirkt (TSAI et. al. 1972).

3.4. Das 2-3Diphosphoglycerat (2-3DPG)

In zahlreichen Untersuchungen an Patienten mit hypoxischen Krankheiten anämischer oder kardiopulmonaler Ursache wurde ein Absinken der Sauerstoff-Affinität am Erythrozyten nachgewiesen (VALERI et. al. 1970; HJELM 1970; FATON et. al. 1970). Bei letzteren korrelierte die Anämie mit einer DPG-Veränderung zwischen 20 und 150 %, wobei der Mechanismus einer Gegenregulation angenommen wurde.

In einer Arbeit stellten BREWER et FATON (1971) die Hypothese auf, daß 2-3DPG nicht nur die Sauerstoff-Affinität des Erythrozyten senkt, sondern daß es auch eine große Rolle in der sensitiven Regulation der gesamten Erythrozytenfunktion bei Kranken und Gesunden spielt. In-vivo-Versuche von KRALL et. al. (1978) an Hunden wiesen nach, daß eine Verminderung der Sauerstoffbindung am Erythrozyten zu einer erhöhten arterio-venösen Sauerstoffdifferenz und so zu einer vermehrten Ausschöpfung und weiter zu einer Senkung des kardialen Outputs führt.

Doch zuvor ein Blick auf die Funktion und den Metabolismus des 2-3DPG.

3.4.1. 2-3DPG und die Erythrozytenfunktion

Vorbemerkend, zum besseren Verständnis der Zusammenhänge, drei grundlegende Aussagen über den Erythrozytenstoffwechsel:

- 1) Die anaerobe Glykolyse ist beim reifen Erythrozyten der einzige Reaktionsschritt zur Energiegewinnung über das ATP, weshalb sie essentiell für die Zellintegrität ist.
- 2) Es besteht eine Wechselwirkung zwischen Metabolismus und Gastransport.
- 3) Der reife Erythrozyt hat die Fähigkeit der de-novo-Produktion von Proteinen durch den Zellkernverlust verloren (nach LUBET et STRYER 1983).

Das 2-3DPG, das hauptsächlich im Erythrozyten vorhanden ist, stellt einen Seitenschritt der dortigen Glykolyse ohne Zuwachs für die Energiegewinnung dar. Nach seiner Entdeckung war die Funktion lange ungeklärt. Parallel dazu liefen Untersuchungen über ein unbekanntes metabolisches Zwischenprodukt, das Einfluß auf die Sauerstoffbindungskurve nehmen würde und wahrscheinlich eine Phosphatverbindung darstellt (SUGITA et. al. 1963).

Schließlich wurde in den sechziger Jahren von BENESCH et BENESCH (1967) und von CHANUTIN et CHURNISCH (1967) das 2-3DPG als ein vom Hämoglobin gebundener Stoff entdeckt, der die Sauerstoffbindungskurve entsprechend verschiebt.

Dieses legt sich in einer durch die Struktur des Hämoglobins gebildeten Höhlung an, was zu einer Vernetzung der α -Ketten führt. So kommt es zu einer Stabilisierung der Quartärstruktur des Desoxyhämoglobins und weiter über eine energetisch günstigere Strukturänderung zu einer Verminderung der Sauerstoff-Affinität (zusammengefaßt nach LUBET et STRYER 1983).

Nach DUHM et. al. (1971) kommt hier ein weiterer Mechanismus zum Tragen: das 2-3DPG ändert, da es die Zellmembran nicht passieren kann, den intrazellulären pH und somit das Donnan-Gleichgewicht, was über den Bohr-Effekt die Sauerstoff-Affinität vermindert.

Andere Untersuchungen zeigten, daß neben der Konzentration an 2-3DPG weitere Faktoren wie Blut-pH und Temperatur die Bindung des 2-3DPG an Hämoglobin beeinflussen (BENESCH et. al. 1969; GARRY et. al. 1969).

ROTH (1969) bestätigte diesen Einfluß durch Nachweis einer positiven Korrelation zwischen 2-3DPG und der P-50-Halbsättigungskurve des Hämoglobins, was KERR et. al. (1979) mit einer Linearität nach der Formel: $P-50 = 29,25 \times 2-3DPG$ in Einklang brachten.

Somit besteht für unsere Untersuchung durch die Messung des 2-3DPG ein direktes Maß für den Grad der Affinität des Sauerstoffes am Erythrozyten bzw. für die Lage der Sauerstoffbindungskurve.

3.4.2. Physiologische Bedeutung des 2-3DPG

Einen wichtigen physiologischen Mechanismus spielt das 2-3DPG bei der sogenannten Höhenanpassung. So wiesen zahlreiche Untersuchungen nach, daß Personen in großer Höhe eine höhere Konzentration an 2-3DPG im Erythrozyten besitzen als Personen auf dem Niveau des Meeresspiegels. Es führt der Wechsel von Meereshöhe auf etwa 4000 m nach ungefähr 24 Stunden zu einer 2-3DPG-Antwort, die etwa 20 % über dem Ausgangswert liegt (nach BREWER et EATON 1971).

Klinisch hat das 2-3DPG vor allem dadurch Bedeutung erlangt, daß bei Blutkonserven durch Absinken des 2-3DPG die Sauerstoff-Bindungskurve nach links verschoben bzw. die Affinität des Sauerstoffes erhöht ist. Dieses kann unter Umständen bei Transfusionen die vorangegangene Situation einer Gewebshypoxie nicht verbessern, da der Sauerstoff nicht ins Gewebe abgegeben werden kann.

Deshalb wird den Blutkonserven Inosin zugesetzt, um somit ein Absinken des 2-3DPG zu verhindern und ihre funktionelle Integrität zu bewahren (nach LUBFT 1983).

3.4.3. Synthese und Metabolismus

Das 2-3DPG wird in einem Seitenschritt der Glykolyse gebildet (siehe Abb. 1.5.).

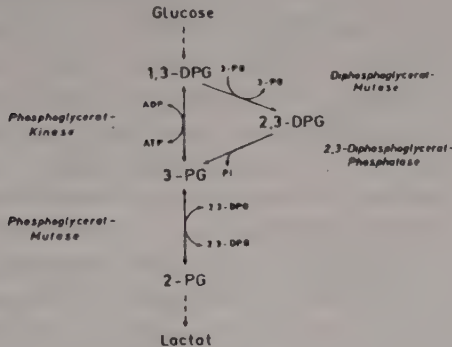


Abb. 1.5. Die Stoffwechselwege des 2-3DPG

Durch die Diphosphoglycerat-Mutase wird eine Phosphatgruppe auf das 2-3DPG übertragen, wobei in Abhängigkeit von der Konzentration des 1-3DPG das 2-3DPG als kompetitive Hemmung dient (nach LUBET et STYRER 1983).

Das 1-3DPG hingegen wird über die Phosphoglycerat-Kinase-Reaktion durch das 3-Phosphoglycerat und das ATP bzw. ADP reguliert (DUHM et. al. 1968).

So spielt auch das 3-Phosphoglycerat, das zugleich auch die 2-3DPG-Mutase hemmt, eine wichtige regulative Rolle (DEUTICKE et. al. 1971).

3.4.4. 2-3DPG und Phosphat

Über den Einfluß von anorganischem Phosphat auf den 2-3DPG-Spiegel und die Glykolyserate liegen Nachweise aus Untersuchungen sowohl in-vitro (ROSE et. al. 1964; TSUBOI et. al. 1965) als auch in-vivo (JAHRMÄRKER 1963; LICHTMANN et MILLER 1970) vor.

Eine Studie von LICHTMANN et. al. (1969) ergab, daß eine parenteral erzeugte Hypophosphatämie zu einem Absinken des ATP, der Glykolyserate und des 2-3DPG führte.

Voraussetzung dafür war der Nachweis von VESTERGAARD-BUGEND (1963), daß aufgrund einer passiven Diffusion im Erythrozyten eine lineare Abhängigkeit des Serum-Phosphates und des intrazellulären Phosphates besteht. In einer weiteren Untersuchung zeigten LICHTMANN et. al. (1971), daß bei Patienten mit einer Hypophosphatämie und folglich mit einem erniedrigtem 2-3DPG und ATP durch eine Normalisierung des Plasma-Phosphatspiegels jeder dieser Werte wieder in den Normbereich stieg. MOORE et. al. (1977) erreichte pharmakologisch in-vivo durch orale Gabe vor allem von Phosphat einen signifikanten Anstieg des 2-3DPG.

Das Serum-Calcium hingegen steht in keiner Korrelation zum 2-3DPG (ASTRUP et. al. 1970). In unserer Arbeit wird es lediglich verwendet, um einen Einfluß der Calciferole auf die Calcium-Phosphat-Homöostase nachzuweisen (siehe auch HUMPFLEDER et. al. 1982).

3.5. Phosphofruktokinase (PFK) und Pyruvatkinase (PK)

Die Glykolyse hat generell zwei wichtigen Aufgaben gerecht zu werden:

- 1) Glukoseabbau zur Energiegewinnung über das ATP
- 2) Lieferung von Bausteinen für die Synthese von Zellbestandteilen (RAPPOPORT 1968).

Dabei wird die Geschwindigkeit so kontrolliert, daß sie den jeweiligen Aufgaben gerecht wird. Von der Kette an Reaktionen, die zum Teil irreversibel, zum Teil reversibel sind, haben dabei sinngemäß die irreversiblen eine regulatorische Funktion. Dies sind besonders die Phosphofruktokinase (PFK) und die Pyruvatkinase (PK). Dabei bildet die PFK die erste glukosespezifische, irreversible Reaktion im Sinne des "committed step" und somit die wichtigste Kontrollfunktion.

Die PFK katalysiert die Umwandlung von Fruktose-6-Phosphat zu Fruktose-1,6-Diphosphat unter Verbrauch von ATP. Abhängig ist die Reaktion vom Bedarf an Energie bzw. an Bausteinen; hohe ATP- und Citratspiegel hemmen das Enzym, niedrige Spiegel steigern umgekehrt die Aktivität (nach SAITO 1967).

Die Pyruvatkinase katalysiert die Reaktion von Phosphoenolpyruvat zu Pyruvat unter Bildung von ATP aus ADP, also unter Energiegewinn. Gehemmt wird die Reaktion wie oben durch einen hohen Energieaustausch.

3.5.1. Einfluß von Phosphat auf die Enzyme

Untersuchungen von ISHIOI et. al. (1965) und von RIZZO et. al. (1966) zeigten, daß die Glykolyse durch das Phosphat über den Regulationsschritt der PFK beeinflusst werden kann. So kommt es auch nach ROSE et. al. (1966) durch eine Substratstimulation des Phosphates zu einem Aktivitätsanstieg der PK.

Daß eine relativ gute Übereinstimmung zwischen der Glykolyserate und der Aktivität besonders der Schlüsselenzyme im Erythrozytenstoffwechsel besteht, bestätigen Untersuchungen von BRUEER (1969).

3.5.2 Das Prinzip der enzymatischen Analyse

Bevor wir in der Methodik diesbezüglich genauer auf die sich uns stellenden Probleme der Enzymmessung eingehen, wollen wir zuvor mit ein paar generellen Betrachtungen einleiten.

Bei der Enzymbestimmung gehen wir davon aus, daß, da direkte quantitative Messungen der Enzymkonzentration technisch zu aufwendig sind, die Messung der allgemein üblichen Enzymaktivität Rückschlüsse auf den Zustand der Glykolyse zuläßt.

Es stellt sich dabei die derzeit grundsätzlich diskutierte Frage, inwieweit ein Anstieg der Aktivität eines Enzymes gleichzusetzen ist mit einem quantitativen Anstieg.

D.W. MOSS (1983) hat diesen Sachverhalt sinngemäß mit dem Begriff der *katalytischen Aktivität* definiert, was heißt: "... the property of an enzym which is measured by the catalyzed rate of conversion of a special chemic reaction produced in a specific assay system." (MOSS 1983).

R. RICHER (1971) berichtet, daß bei der Bestimmung der Enzymaktivität implizit angenommen werden kann, daß sie proportional zur Konzentration ist, wobei dies jedoch mit Ausnahmen behaftet ist.

Da es sich aber in unserer Arbeit um Erythrozyten handelt, die aufgrund des Zellkernverlustes die Fähigkeit der Enzym-de-novo-Synthese verloren haben (nach WINTROBE 1981), liegt es nahe, daß sich hier eine Aktivitätsänderung auf der Ebene der Co-Faktoren bei quantitativ konstanter Enzymmenge abspielt.

So kann letzten Endes durch unsere Messung indirekt nur auf den Zustand der Enzymaktivität geschlossen werden, ohne daß man Rückschlüsse auf die Voraussetzungen ziehen kann.

II. Material und Methoden

1. Die UV-Strahlung

1.1. Das UVA-Bestrahlungsgerät

Für den UVA-Versuchsteil wurde ein UVASUN 30000 der Herstellerfirma Mutzhas Co., München, verwendet. Es besteht aus fünf 2000 Watt Halogenidstrahlern, die in einem Reflektorgehäuse mit darunterliegenden Filterscheiben angebracht sind. Von dort aus wird das Licht laut Betriebsanleitung um das Dreifache gefiltert, womit man eine zu vernachlässigende Reststrahlung des UVB-Bereiches erreicht (siehe auch Abb. II.1.) (nach MUTZHAS et. al. 1981).

Der Anteil des UVA liegt laut Gerätebeschreibung bei etwa 80 %, der Rest im Bereich des sichtbaren Lichtes. Die Bestrahlung erfolgte im Liegen, wobei durch Wenden der Versuchsperson eine annähernd gleichmäßige Ganzkörperbestrahlung erreicht wurde.

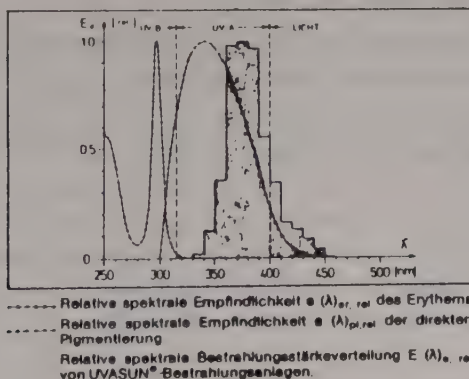


Abb. II.1. Die spektrale Verteilung des UVA-Bestrahlungsgerätes UVASUN 30000 (nach MUTZHAS et. al. 1981)

1.2. Die UVA-Dosiswahl

Da wir bei der UVA-Bestrahlung keine quantitativ vergleichbaren Bezugswerte wie die MED (minimal erythemdosis) im UVB-Teil zur Verfügung haben, entschlossen wir uns, hier eine einheitliche Dosis von 30 J/cm^2 zu verwenden.

Mit diesem Wert wollten wir im oberen Bereich der in vergleichbaren Veröffentlichungen verwendeten durchschnittlichen Dosen liegen: nach MUTZHAS et. al. (1981) liegt die minimale UVA-Bräunungsdosis (minimal tanning dose - MTD) bei Kollektiven im Durchschnitt bei etwa $15 - 30 \text{ J/cm}^2$. Andere Untersuchungen sprechen von einer minimalen UVA-Erythemdosis von $5 - 30 \text{ J/cm}^2$ (KAIDREY et KLINGMANN 1979) oder $21 - 36 \text{ J/cm}^2$ (PARRISH et. al. 1978). Wir erreichten somit einen vertretbaren Kompromiß zwischen relativ hoher Bestrahlungsdosis und noch akzeptabler Belastung.

1.3. Das UVB-Bestrahlungsgerät

Für den UVB-Versuchsteil wurde ein SOLARIUM DE LUXE der Herstellerfirma Hanau verwendet.

Es besteht aus drei Quecksilber-Hochdruckbrennern. Die Gesamtbestrahlungsstärke liegt nach Untersuchungen von SCHNELL (1985) bei $1,3 \text{ mW/cm}^2$ mit einem Anteil an UVA von 60 %, an UVB von 39 % und an UVC von 1,9 %. Die Versuchspersonen wurden im Liegen von oben bestrahlt, wobei durch Wenden eine relativ gleichmäßige Ganzkörperbestrahlung erreicht wurde.

1.4. Die MED-Bestimmung

Als individuelles quantitatives Maß der experimentell verabreichten Bestrahlungsdosis verwendeten wir die Bestimmung der "Minimale Erytheme Dosis" (MED) unter Bezugnahme auf die klassische Methode nach WUCHERPFENNIG (1942). Danach ist die MED die kleinste Dosis, die ein nach 7 bis 24 Stunden bei diffusem Tageslicht ablesbares, minimales, nach allen Seiten abgrenzbares Erythem erzeugt.

Zur Erythembeurteilung verwendeten wir die leicht modifizierte Einteilung nach HAWK et PARRISH (1982):

- NR : Keine Reaktion, identisch mit unbestrahlter Haut
- MPE : Minimal perceptible erythema; fleckenhaftes, schwaches, auf den Bestrahlungsort beschränktes Erythem ohne scharfe Grenzen
- E 1+: Minimales Erythem, an allen Seiten scharf abgrenzbar
- E 2+: Deutliches Erythem ohne Ödembildung
- E 3+: Ausgeprägtes Erythem mit Ödembildung
- E 4+: Schmerzhaftes Erythem mit Blasenbildung

Die MED-Bestimmung entspricht somit dem Stadium E 1+.

1.5. Die UVB-Dosiswahl

Zur Bestimmung der jeweiligen individuellen Bestrahlungsdosis wurde bei jeder Versuchsperson der UVB-Reihe eine Woche vor dem eigentlichen Versuch die MFD bestimmt. Aus technischen Gründen verwendeten wir dafür eine Höhensonne 3002 von der Herstellerfirma Hanau, die annähernd dieselbe spektrale Verteilung wie das für die Ganzkörperbestrahlung verwendete Gerät enthält. Um eine gleichbleibende Bestrahlungsstärke zu erreichen, wurde der jeweilige Abstand zwischen Gerät und Versuchsperson mit einem UV-Dosimeter der Firma Hanau (Meßbereich 290 - 330 nm) auf gleiche Bestrahlungswerte geeicht. Mit einem speziellen Handschuh der Firma Mutzhas, München, wurden auf der volaren Seite des Unterarmes einer jeden Versuchsperson quadratische Fenster mit der jeweiligen Bestrahlungsstärke versehen. Diese sogenannte frythemtreppe erreichten wir folgendermaßen: Das Bestrahlungsgerät wurde mit dem Dosimeter auf einen Abstand geeicht, der einer Dosisleistung von 1 mW/cm^2 entspricht. Nachdem der übrige Körper der Versuchsperson mit einem schwarzen Tuch abgedeckt wurde, öffneten wir im Abstand von 10 Sekunden ein weiteres Fenster des Handschuhes, so daß wir eine frythemtreppe mit einer lokalen Dosis von $10 - 60 \text{ mJ/cm}^2$ erreichten. Das Ergebnis wurde 7 Stunden später nach den oben genannten Kriterien abgelesen. Ein minimales, nach allen Seiten scharf abgegrenztes frythem (f 1+) entsprach der jeweiligen individuellen Applikationsdosis für die Ganzkörperbestrahlung.

Tabelle II.1. zeigt die jeweiligen ermittelten Bestrahlungsdosen mit einem Mittel bei $23,75 \text{ mJ/cm}^2$.

VP-Nr	9	10	11	12	13	14	15	16
Dosis in mJ/cm^2	25	20	25	20	30	30	10	30

Tab. II.1. UVB-Dosen der Versuchspersonen (VP) aufgrund der MFD-Bestimmung

2. Die Versuchspersonen

Als Versuchspersonen beteiligten sich jeweils 8 Kaukasier beider Geschlechter, die sich freiwillig zur Verfügung stellten. Mit einem Fragebogen wurden zu jeder Person die im Anhang aufgeführten Fakten ermittelt.

Am UVA-Versuchsteil (VP 1 - 8) nahmen 6 Männer und 2 Frauen teil. Das Durchschnittsalter lag bei 27,4 Jahren, das Durchschnittsgewicht bei 70,1 kg und die Durchschnittsgröße bei 179,5 cm. Betreffend des Pigmentierungstyps war das Verhältnis von dunkelblond und schwarz zu hellblond bei 5 zu 3. Die Versuchspersonen waren alle gesund und nahmen mit Ausnahme von Ovulationshemmern bei beiden Frauen ansonsten keine Medikamente ein. Zum Zeitpunkt des Versuches hatten beide Frauen keine Menstruation. Fünf der Probanden hatten einen durchschnittlichen Nikotinkonsum von 10 - 20 Zigaretten pro Tag. Bezüglich der Ernährung gab es keine Besonderheiten.

In der UVB-Versuchsreihe lag das Geschlechtsverhältnis von männlich zu weiblich bei 5 zu 3 (VP 9 - 16). Das Durchschnittsalter war bei 24,6 Jahren, das Durchschnittsgewicht bei 69,1 kg und die Durchschnittsgröße bei 177,8 cm. Das Verhältnis des Pigmentierungstyps von dunkelblond und schwarz zu blond war 4 zu 4.

Sechs Probanden waren zum Zeitpunkt des Versuches gesundheitlich unauffällig. Versuchsperson Nr. 14 war zwei Monate zuvor strumektomiert worden und zeigte während der Versuchsperiode eine an der oberen Grenze befindliche euthyreote Stoffwechsellage. Außerdem wurde regelmäßig Thyroxin eingenommen.

Versuchsperson Nr. 16 war insulinpflichtiger Diabetiker vom Typ I.

Außer zwei Frauen (VP 12 und 15) mit einer regelmäßigen Applikation von Ovulationshemmern, nahm kein weiterer der Probanden Medikamente zu sich.

Versuchsperson Nr. 11 befand sich zum Zeitpunkt des Versuchs in der Menstruation.

Die Zahl der Raucher lag bei 5, mit einem durchschnittlichen Konsum von 13 Zigaretten pro Tag.

Bezüglich der Ernährung lagen außer bei VP Nr. 16 mit einer Diabetesdiät keine Besonderheiten vor.

Keine der Versuchspersonen hatte in den vorangehenden drei Monaten ein Sonnenbad genommen.

Wir empfahlen allen Probanden, während des Versuchs die normalen Lebensgewohnheiten (v.a. Schlaf und Ernährung) beizubehalten, die Applikation von Externa jeglicher Art zu vermeiden und sich keinem übermäßigen Streß zu unterziehen.

Eine tabellarische Übersicht der Daten der Versuchspersonen ist im Anhang verzeichnet.

3. Die Probengewinnung

3.1. Die Blutabnahme

Die Blutabnahme erfolgte ausnahmslos mit einem Einmalbesteck an der Vena cubitalis. Das Blut wurde in eisgekühlten, heparinisierten Gläsern aufgefangen.

3.2. Der Transport

Die abgenommenen Blutproben wurden gekühlt vom Ort der Blutentnahme zum Ort der Aufarbeitung gebracht. Im UVB-Versuchsteil entsprach dies einem Zeitintervall von etwa ein bis zwei Minuten.

Die besondere Fragestellung der Lagerung der Proben, wie sie in Vorversuchen ausgearbeitet wurde, wird in den jeweiligen Kapiteln der Labormethoden in den Abschnitten der Probenvorbereitung behandelt.

4. Die Labormethoden

Da wir es bei einem Teil der Messungen mit Enzymbestimmungen und deren eigener Problematik zu tun haben, sind im folgenden einige grundsätzliche Überlegungen geschildert, die anschließend beschrieben werden. Danach werden die einzelnen Analysen beschrieben, wobei auf die gegebenen Probleme der Probenvorbereitung und der Lagerung in den jeweiligen Abschnitten eingegangen wird.

4.1. Die Enzymmessungen

4.1.1. Bestimmung der Kinetik

Bei der Messung der katalytischen Aktivität läuft die Reaktion unter definierten Bedingungen mit dem Substrat im Überschuß ab. Als Maß dient der Substratumsatz pro Zeiteinheit.

Bestimmt wird in einer sogenannten Zweipunktmessung, wobei bedacht werden muß, daß dabei keine definitive Aussage über die Kinetik gemacht werden kann (nach RECHNER 1971).

Um dem ausreichend gerecht zu werden, haben wir stichpunktartig und am Anfang jeder Meßreihe kinetische Messungen angefertigt, die den Reaktionsablauf fortlaufend darstellten. Sie bestätigten, daß die Punktmessung hinsichtlich der Kinetik auch aussagekräftig ist. Um eine genaue, reproduzierbare Messung zu garantieren, wurde die Doppelbestimmung in jeweils zwei verschiedenen Ansatzreihen durchgeführt, wobei eine dem Photometer entsprechende Ansatzreihe einem automatischen Meßdurchgang mit fünf parallelen Ansätzen und einem Leerwert entspricht (Gerät: BECKMANN Du-8-Spectrophotometer).

4.1.2. Einflußgrößen auf die Enzymbestimmung

In Anlehnung an RICHTER (1971) sind Enzymbestimmungen unter optimalen Bedingungen durchzuführen. Dies wurde in unserer Arbeit folgendermaßen berücksichtigt:

- Temperatur: Die Temperatur während der Messung wurde im Photometer bei den geforderten 25 bzw. 37 °C konstant gehalten. Sämtliche Messungen wurden auch im selben Raum bei konstanter Raumtemperatur durchgeführt.
- pH-Wert: Dieser wurde jeweils durch eine Pufferlösung erreicht.
- Inkubation: Die Inkubationszeit wurde mit einer Stoppuhr mit Sekundenanzeige kontrolliert.

4.1.3. Aktivitätseinheiten und ihre Berechnung

Die Aktivitätseinheiten wurden auf Empfehlung der I.U.B. (International Union of Biochemistry 1961) in I.U. gemessen. Dies entspricht der Menge des Enzymes, das die Umwandlung von 1 mol Substrat bzw. Produkt pro Minute bewirkt.

Die Berechnung der Einheiten erfolgte nach dem Lambert-Beer'schen Gesetz durch Einsetzen des gemessenen Extinktionskoeffizienten.

4.2. Bestimmung des 2-3DPG

Das 2-3DPG wurde nach der von MICHAL (1983) beschriebenen Methode photometrisch bestimmt.

Reagentien Die Reagentien wurden von der Firma
und Geräte: Boehringer GmbH, Mannheim, bezogen.
Zur Messung diente ein Photometer der
Firma Beckmann.

Probeent- siehe Kap. 3.1. und 3.2.
nahme:

Probepor- Erythrozyten isolieren: Wiederholtes Waschen
bereitung: mit dem fünffachen Volumen einer eiskalten
0,9 % NaCl-Lösung und Zentrifugieren bei
2000 g. Das überstehende Plasma, die Throm-
bozyten und die Leukozyten werden zusammen
mit den obersten Erythrozyten abgesaugt.
Der Prozeß wird dreimal wiederholt.

Enteiuweißen: 1 ml Erythrozyten-Zentrifugat
in ein eisgekühltes Gefäß der Ultrazentri-
fuge geben. Dann 5 ml einer eisgekühlten
0,6-molaren Perchlorsäure hinzufügen und
sofort auf einem Vibrator kräftig mischen.
Die Proben bei Thermometerkontrolle stets
bei 0 °C halten.

Zentrifugieren: Proben in einer Kühlzentrifuge bei 15.000 g und 0 °C etwa 10 Minuten zentrifugieren und 4 ml Überstand mit 0,5 ml einer eisgekühlten 2,5 mol/l Kaliumcarbonat-Lösung mischen. Anschließend werden diese im Eisbad bei 0 °C belassen. Der Niederschlag wird in einer Kühlzentrifuge bei 0 °C und 15.000 g in 10 Minuten abzentrifugiert.

Die überstehende Lösung wird zur Bestimmung verwendet.

Lagerung: Laut MICHAL (1981) ist das 2-3DPG im neutralisierten Extrakt bei Raumtemperatur etwa 1 Tag lang stabil. Zur Untersuchung der Stabilität bei Lagerung mit niederen Temperaturen wurden acht enteweißte und neutralisierte Proben bei -40°C eingefroren. Nach 20 Tagen Lagerung wurden die Proben bestimmt und mit einer Sofortmessung verglichen.

Die Durchschnittskonzentration lag bei $0,9224 \text{ mol 2-3DPG/molHb}$ ($\delta=0,077$) Ausgangswert gegenüber $0,9405 \text{ mol 2-3DPG/molHb}$ ($\delta=0,103$) nach Lagerung. Somit war eine Aufarbeitung der Proben zu einem späteren Zeitpunkt erlaubt.

Da die Reaktion von der Aktivität der im Meßansatz zugeführten Enzyme abhängt, zugleich jedoch das Reaktionsgemisch nur eine kurze Halbwertszeit besitzt, entschieden wir uns, zur besseren Übereinstimmung alle 2-3DPG-Messungen mit gleichen Ansätzen am selben Tag durchzuführen. So wurden alle Proben einer Versuchsreihe bei -40°C gelagert und am Ende nach zwei Wochen gleichzeitig bestimmt. Somit war eine höchstmögliche Übereinstimmung der Meßvoraussetzungen gegeben.

Bestimmungs- Dieser wurde nach der Anleitung nach MICHAL
ansatz: in einer Doppelbestimmung durchgeführt.
Meßstrahl: 340 nm ; Inkubationstemperatur: 25°C ; Küvettenschichtdicke: 1 cm ;
Messung gegen Leerwert.

Berechnung: Die ermittelte Differenz des Extinktionskoeffizienten wurde unter Berücksichtigung des Verdünnungsfaktors mit dem Lambert-Beer'schen Gesetz in die Konzentration umgerechnet. Anschließend wurde dieser Wert in Bezug zu dem nach der Frythrozytenwaschung gemessenen Hb-Wert in mmol gesetzt. Dies ergab einen absoluten Wert mit der Dimension mol 2-3DPG/molHb.

Qualitätskontrolle: Zur Qualitätskontrolle wurde zwischen den Meßreihen eine Standardlösung mitgeführt. Der Mittelwert dieser Lösung betrug:
 $E=8,0043$ mit $\delta=0,0824$.

4.3. Bestimmung der Phosphofruktokinase (PFK) und der Pyruvatkinase (PK)

Beide Enzyme wurden nach der von SCHRÖTER (1974) beschriebenen Methode bestimmt.

Reagentien: Die Reagentien wurden von der Firma

und Geräte: Boehringer GmbH, Mannheim, bezogen.

Zur photometrischen Messung diente ein Photometer der Firma Beckmann.

Probeentnahme und Vorbereitung: Die Probeentnahme und die Erythrozytenwaschung erfolgte nach denselben Gesichtspunkten wie beim 2-3DPG (Kap. 4.2.). Zur Hämolyse wurden zu 0,5 ml gewaschenen und abzentrifugierten erythrozyten eine Mischung aus 5 ml eiskaltem Aqua bidest. und Triäthanolpuffer (1:1) zugefügt und 15 Minuten bei 4 °C stehengelassen, anschließend bei 2000 g zentrifugiert und der Überstand zur Aktivitätsmessung verwendet.

Lagerung: In Vorversuchen wurde an 6 Probanden untersucht, inwieweit das Hämolysat bei -40 °C lagerbar ist. Dabei ergab sich, daß im Mittelwert die PFK schon nach 2 Tagen stark abgefallen und die PK stark angestiegen ist.

PFK: $F=2,065$; $\delta=0,212$ zu $E=1,6741$; $\delta=0,5744$
PK: $t=1,541$; $\delta=0,290$ zu $E=1,9100$; $\delta=0,675$

Das bedeutet, daß beide Enzyme nicht lagerbar sind und unmittelbar nach Blutentnahme aufgearbeitet werden müssen.

Auch hier gilt wie beim 2-3DPG derselbe Grundsatz: optimale Bedingungen durch sofortige Aufarbeitung, konstantes Kühlhalten der Proben und des Hämolysates und schließlich Pufferung des Hämolysates (nach SCHRÜTER 1974).

Bestimmungs- Dieser erfolgte nach der Anleitung von
ansatz: SCHRÜTER (1974). Meßstrahl: 340 nm; Inkubationstemperatur: 37 °C; Küvettenschichtdicke: 1 cm; Messung gegen Leerwert.

Berechnung: Die Differenz des Extinktionskoeffizienten wurde unter Berücksichtigung des Verdünnungsfaktors mit dem Lambert-Beer'schen Gesetz in die Konzentration umgerechnet. Als Bezug diente der nach der Erythrozytenwaschung gemessene Hb-Wert.

Somit ergab sich ein absoluter Wert in der Dimension l.u./mmolHb.

4.4. Bestimmung des anorganischen Phosphor im Serum

Der anorganische Phosphor wurde mit der Test-Kombination der Firma Boehringer GmbH, Mannheim, Nr. 124 974 bestimmt. Der Normalbereich der Kits liegt bei 0,81 - 1,62 mmol/l im Serum bei Erwachsenen.

4.5. Bestimmung des Calcium im Serum

Das Calcium im Serum wurde mit der Methode der Atomabsorption gemessen.

Es wurde ein Gerät Nr. 457 der Firma INSTRUMENTATION LABORATORY verwendet.

Der Normalbereich ist bei 4,3 - 5,5 mval/l.

4.6. Bestimmung des Hämoglobins

Das Hämoglobin wurde photometrisch mit der Test-Kombination Nr. 124 729 der Firma Boehringer GmbH, Mannheim, bestimmt.

Der Normalwert liegt bei Männern bei 8,7 - 11,2 mmol/l (Hb/4) und bei Frauen bei 7,5 - 9,9 mmol/l (Hb/4).

5. Die Versuchsanordnung

Um den Fragestellungen gerecht zu werden, wählten wir folgende Versuchsanordnung:

Für den UVA- und UVB-Versuchsteil bestrahlten wir je 8 Versuchspersonen in der ersten Woche am 2. bis 5. Tag. Der erste Tag diente als Bezugstag zur Bestimmung der Ausgangswerte vor Bestrahlung. In der zweiten Woche wurden als Nachbeobachtungswoche die Werte am 8., 10. und 12. Versuchstag bestimmt.

Um dem circadianen Rhythmus gerecht zu werden, wurden die Blutabnahmezeiten jeweils auf 9⁰⁰ Uhr und 14⁰⁰ Uhr, am 1. und 2. Tag auf zusätzlich 17⁰⁰ Uhr festgelegt. Die Bestrahlung erfolgte unmittelbar nach der 9⁰⁰-Uhr-Blutabnahme.

Damit ergaben sich Werte jeweils 4 und 24 Stunden nach einer Bestrahlung und zusätzlich am 2. Tag nach 7 Stunden. Da nur ein Bestrahlungsgerät zur Verfügung stand, wurden Blutabnahme- und Bestrahlungszeiten zeitlich so gestaffelt, daß die angegebenen Zeiten mit einer Abweichung von weniger als 30 Minuten gelten.

Durch diesen Versuchsaufbau erreichten wir Aufschlüsse über eine kurzfristige (4 - 7 Stunden), eine mittelfristige (24 Stunden) und über eine langfristige (8 - 12 Tage) Wirkung.

6. Die Ergebnisberechnung und Statistik

Von allen Versuchspersonen wurden jeweils die Abweichungen an den Beobachtungstagen vom Bezugstag bestimmt und die Mittelwerte berechnet.

Zur Signifikanzberechnung der Mittelwertsdifferenzen diente der t-Test bei gepaarten Beobachtungen (CAVALLI-SFORZA 1980).

Die Signifikanzschranken wurden mit $p \leq 0,05$ als schwach signifikant (+) und mit $p \leq 0,01$ als signifikant (++) festgelegt.

In den Graphiken sind Mittelwerte und Standardabweichungen eingezeichnet.

III. Ergebnisse

1. Die 2-3DPG-Werte

In unserer Untersuchung lagen die Mittelwerte sowohl an den Bezugstagen als auch an den Beobachtungstagen bei durchschnittlich 0,847 mol2-3DPG/molHB ($\bar{G}=0,045$).

Dies entsprach demselben Bereich, wie er auch in anderen Untersuchungen ermittelt wurde (KERR et.al. 1979; BREWER et EATON 1971).

Es ergaben sich bei den einzelnen Verläufen weder nachweisbare Tagesrhythmen, noch wichen einzelne Kurvenverläufe signifikant vom Bereich ab.

In Abb. III.1. und III.2. sind die Verläufe der 2-3DPG-Werte bei UVA- bzw. UVB-Bestrahlung dargestellt.

Die Abweichungen an den Beobachtungstagen verglichen mit den Bezugstagen um 9⁰⁰ und 14⁰⁰ Uhr (Abb. III.3. und III.4.) zeigen geringfügige, statistisch nicht signifikante Schwankungen um die Nullachse ohne eindeutige Tendenz.

In Tab. III.1. sind die Einzelwerte aufgelistet.

2-3 DPG - UVA

mol 2-3 DPG
mol Hb

- 38 -

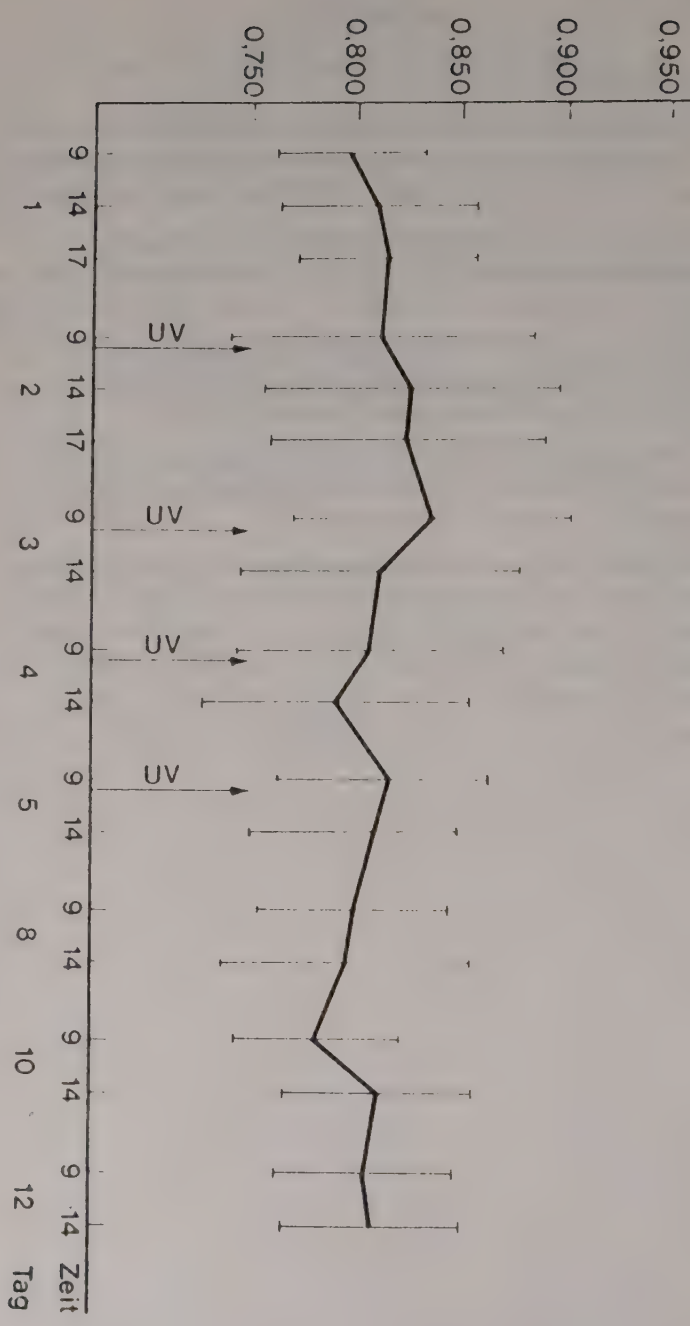


Abb. III.1. 2-3DPG: Mittelwerte im Erythrozyten nach UVA-Bestrahlung (n = 8)

mol 2-3 DPG
mol Hb

2-3 DPG - UVB

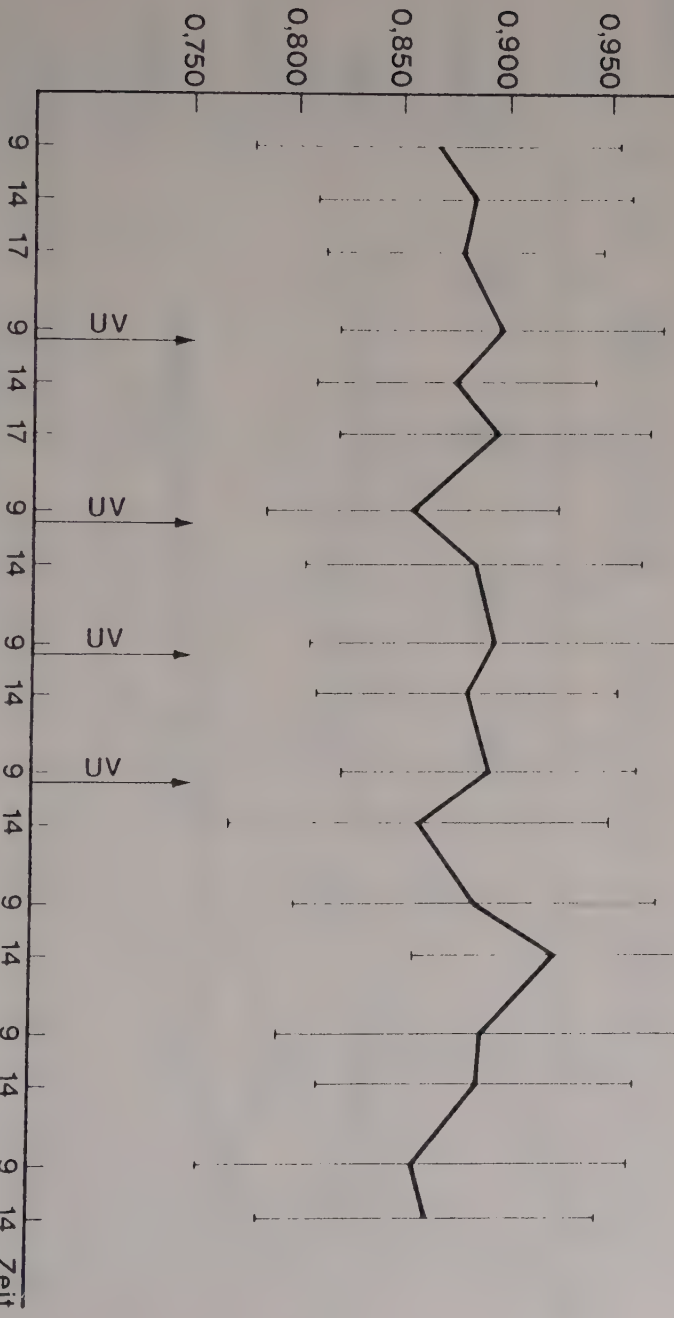


Abb. III.2. 2-3DPG: Mittelwerte im Erythrozyten nach UVB-Bestrahlung (n = 8)

Zeit
Tag

2-3 DPG

mol 2-3DPG
mol Hb

UVA: — $n=8$
UVB: - - - $n=8$

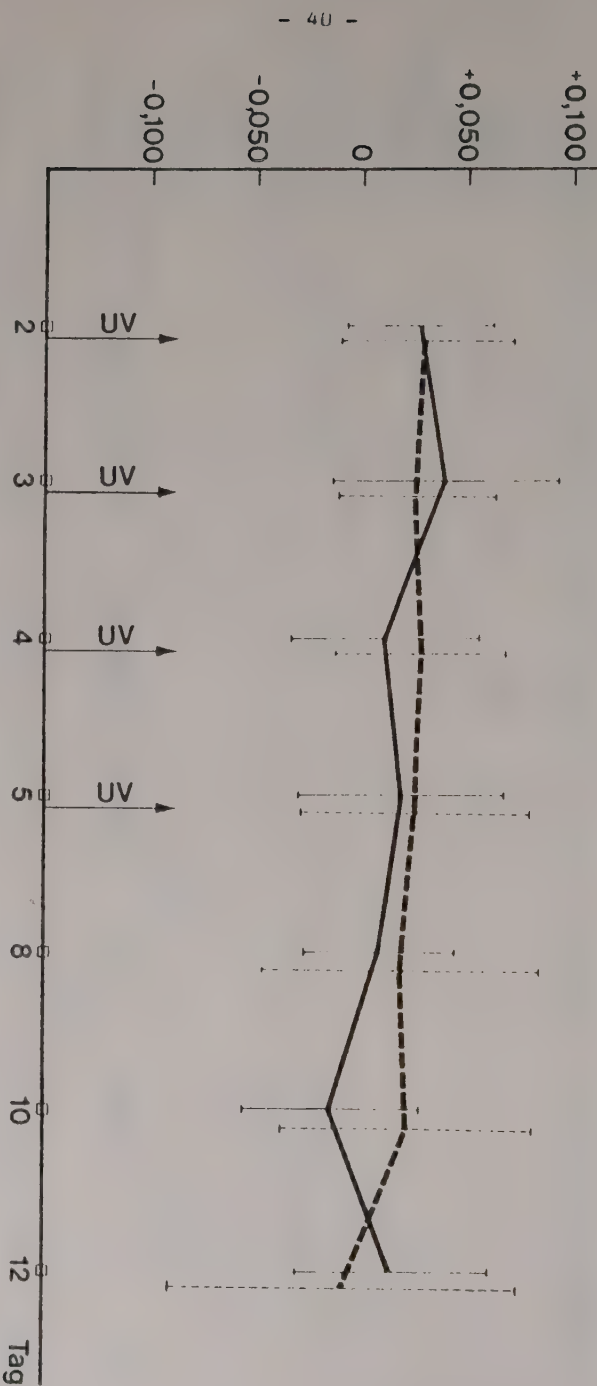


Abb. III.3. 2-3DPG: Abweichung (Δ) der Beobachtungstage vom Bezugstag - 9°°Umf-Werte

2-3 DPG

mol 2-3DPG
mol Hb

UVA: — $n = 8$
UVB: - - - $n = 8$

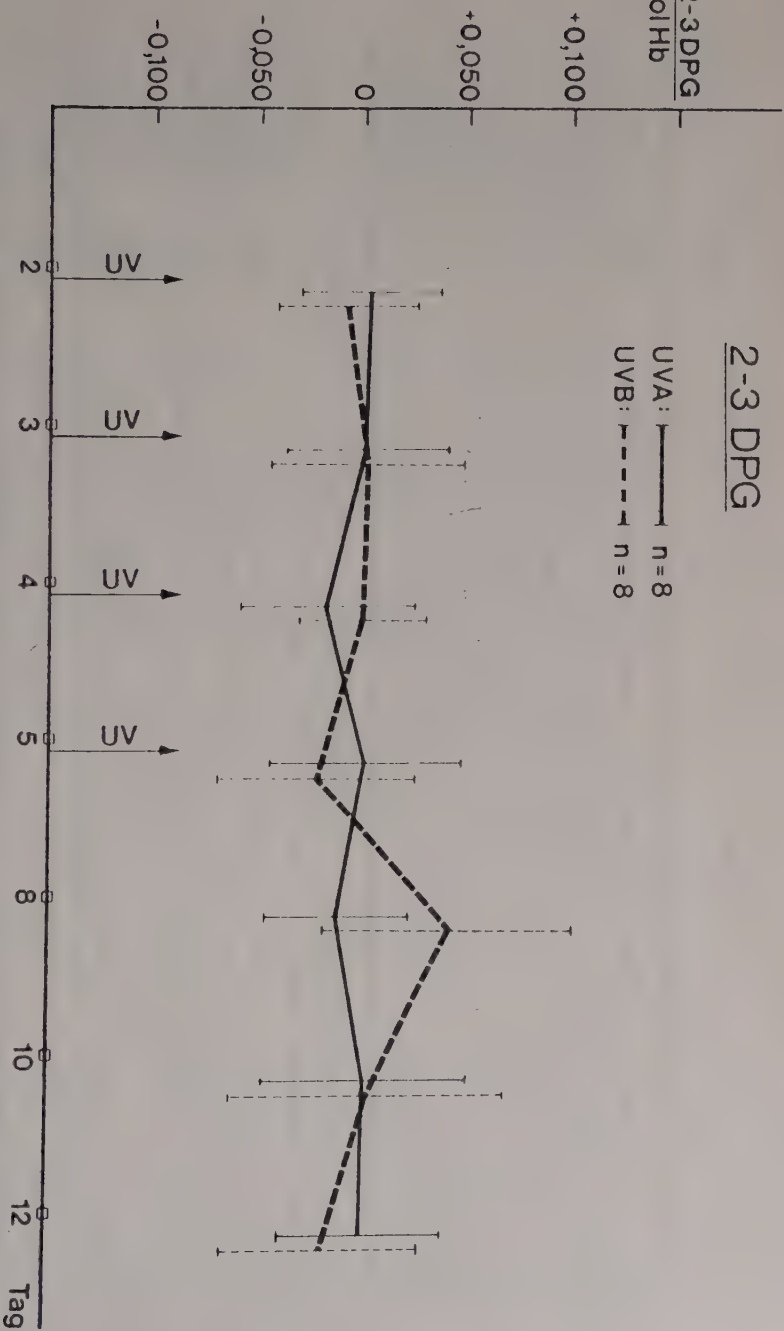


Abb. III.4. 2-3DPG: Abweichung (Δ) der Beobachtungstage vom Bezugstag - 14⁰⁰Uhr-Werte

	$\frac{1}{2}-9^{00}$	$\frac{1}{2}-14$	$\frac{1}{2}-17$	$\frac{1}{3}-9$	$\frac{1}{3}-14$	$\frac{1}{4}-9$	$\frac{1}{4}-14$	$\frac{1}{5}-9$
UV-A								
Δ	+0,028	+0,002	+0,012	+0,039	+0,001	+0,010	-0,018	+0,019
δ	0,034	0,033	0,036	0,053	0,038	0,044	0,041	0,048
UV-B								
Δ	+0,038	-0,009	+0,016	-0,012	+0,001	+0,027	-0,001	+0,025
δ	0,041	0,033	0,035	0,074	0,046	0,040	0,035	0,054
	$\frac{1}{5}-14$	$\frac{1}{8}-9$	$\frac{1}{8}-14$	$\frac{1}{10}-9$	$\frac{1}{10}-14$	$\frac{1}{12}-9$	$\frac{1}{12}-14$	
UV-A								
Δ	0,000	+0,009	-0,013	-0,014	0,000	+0,013	-0,002	
δ	0,045	0,035	0,033	0,042	0,048	0,045	0,038	
UV-B								
Δ	-0,024	+0,019	+0,040	+0,022	+0,003	-0,008	-0,020	
δ	0,047	0,065	0,059	0,059	0,065	0,082	0,046	

Tab. III.1. 2-3DPG: Abweichung der Beobachtungstage vom Bezugstag

2. Die Pyruvatkinasewerte

Der Mittelwert der Bezugs- und Beobachtungstage lag bei 728 I.U./mmolHb ($\bar{b}=42$) und damit nur unwesentlich unter den von anderen ermittelten umgerechneten Werten (SCHIRÜTER 1974).

In den einzelnen Verläufen lagen keine besonderen Abweichungen vor.

Abb. III.5. und III.6. zeigen die Kurven bei UVA- bzw. UVB-Bestrahlung.

Die in Abb. III.7. und III.8. dargestellten Abweichungen der Beobachtungstage vom Bezugstag zeigen keine statistisch signifikanten Veränderungen bei einer relativ breiten Streuung.

Bei beiden Abbildungen bewegt sich die Kurve in leichten Schwankungen um die Nullachse ohne deutliche Tendenz.

Tab. III.2. führt die Einzelwerte auf.

$\frac{\text{I.U.}}{\text{mmol Hb}}$

PK-UVA

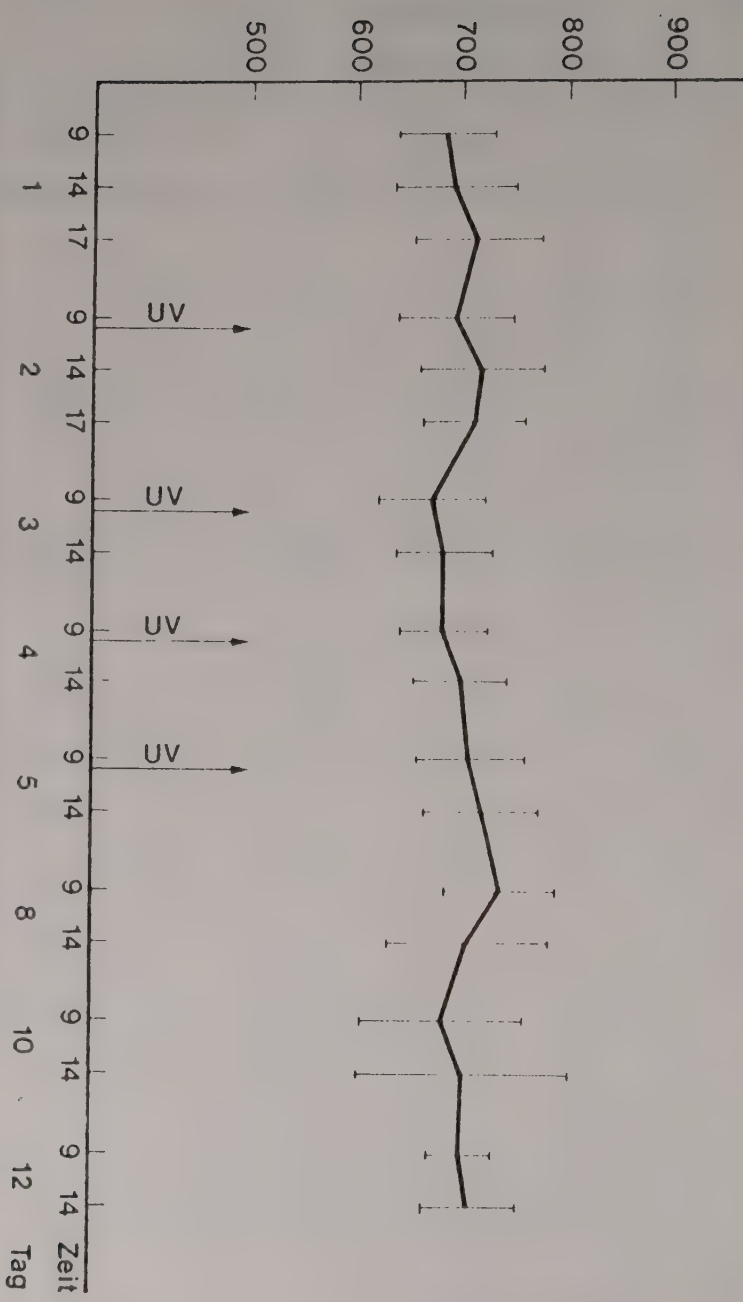


Abb. III.5. PK: Mittelwerte im Erythrozyten nach UVA-Bestrahlung (n = 8)

$\frac{\text{I.U.}}{\text{mmol Hb}}$

PK - UVB

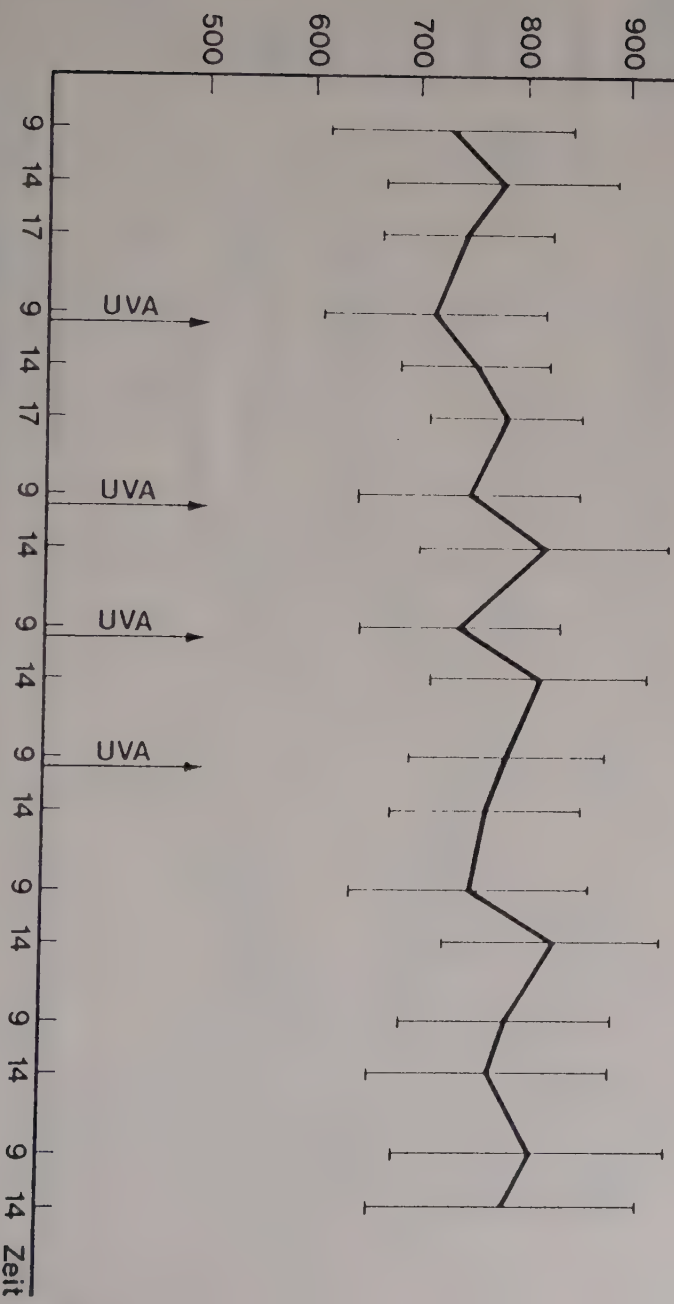


Abb. III.6.

PK: Mittelwerte im Erythrozyten nach UVB-Strahlung (n = 8)

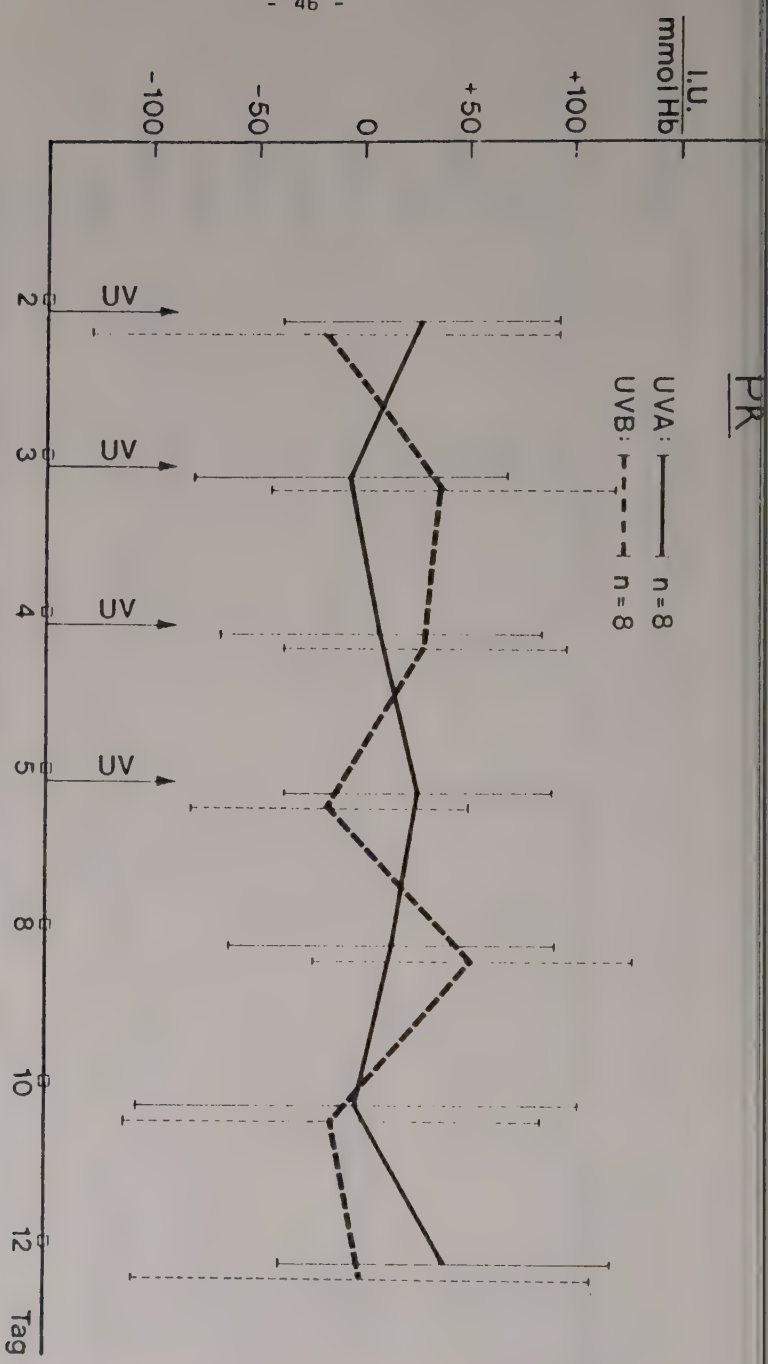


Abb. III.7. PK: Abweichung (Δ) der Beobachtungstage vom Bezugstag - 9°Uhr-Werte

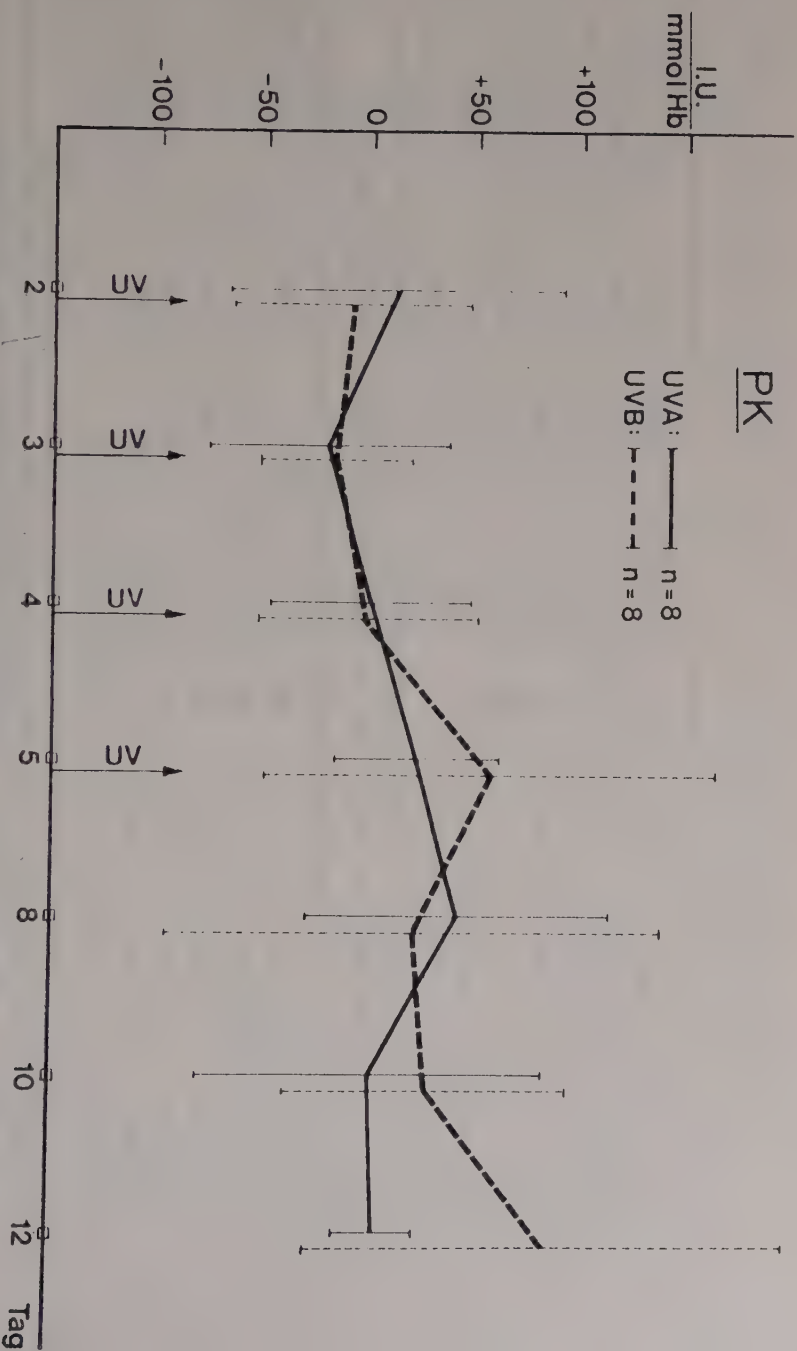


Abb. III.8.

PK: Abweichung (Δ) der Beobachtungstage vom Bezugstag - 14⁰⁰Uhr-Werte

		$\frac{1}{2}-9^{00}$	$\frac{1}{2}-14$	$\frac{1}{2}-17$	$\frac{1}{3}-9$	$\frac{1}{3}-14$	$\frac{1}{4}-9$	$\frac{1}{4}-14$	$\frac{1}{5}-9$	
UV-A		Δ	+12	+27	+5	-20	-7	0	+9	+21
		δ	-78	65	55	57	74	47	76	38
UV-B		Δ	-10	-18	+38	+19	+37	-2	+30	+57
		δ	57	100	53	72	81	52	67	106
			$\frac{1}{5}-14$	$\frac{1}{8}-9$	$\frac{1}{8}-14$	$\frac{1}{10}-9$	$\frac{1}{10}-14$	$\frac{1}{12}-9$	$\frac{1}{12}-14$	
UV-A		Δ	+27	+42	+13	0	-2	+3	39	
		δ	63	72	77	81	104	19	78	
UV-B		Δ	-16	+21	+52	+27	-14	+84	0	
		δ	65	116	75	66	98	113	108	

Tab. III.2. PK Abweichung (Δ) der Beobachtungstage vom Bezugstag (δ =Standardabweichung)

3. Die Phosphofruktokinasewerte

Der Mittelwert der Bezugs- und Beobachtungstage lag bei 640 I.U./mmolHb ($\bar{G}=22,9$).

Dies liegt umgerechnet innerhalb des von anderen Autoren ermittelten Bereiches (SCHRÖTER 1972).

Bei den einzelnen Kurvenverläufen gab es keine auffälligen Abweichungen oder Besonderheiten.

Abb. III.9. und III.10. zeigen den Verlauf nach UVA- bzw. UVB-Bestrahlung. Hier bewegt sich die Kurve lediglich mit kleinen Schwankungen innerhalb der ermittelten Standardabweichung.

Die Abweichung der Beobachtungstage vom Bezugstag um 9⁰⁰ und 14⁰⁰ Uhr zeigt geringfügige, statistisch nicht signifikante Schwankungen um die Nullachse ohne eindeutige Tendenz.

Die Einzelwerte sind in Tab. III.3. aufgeführt.

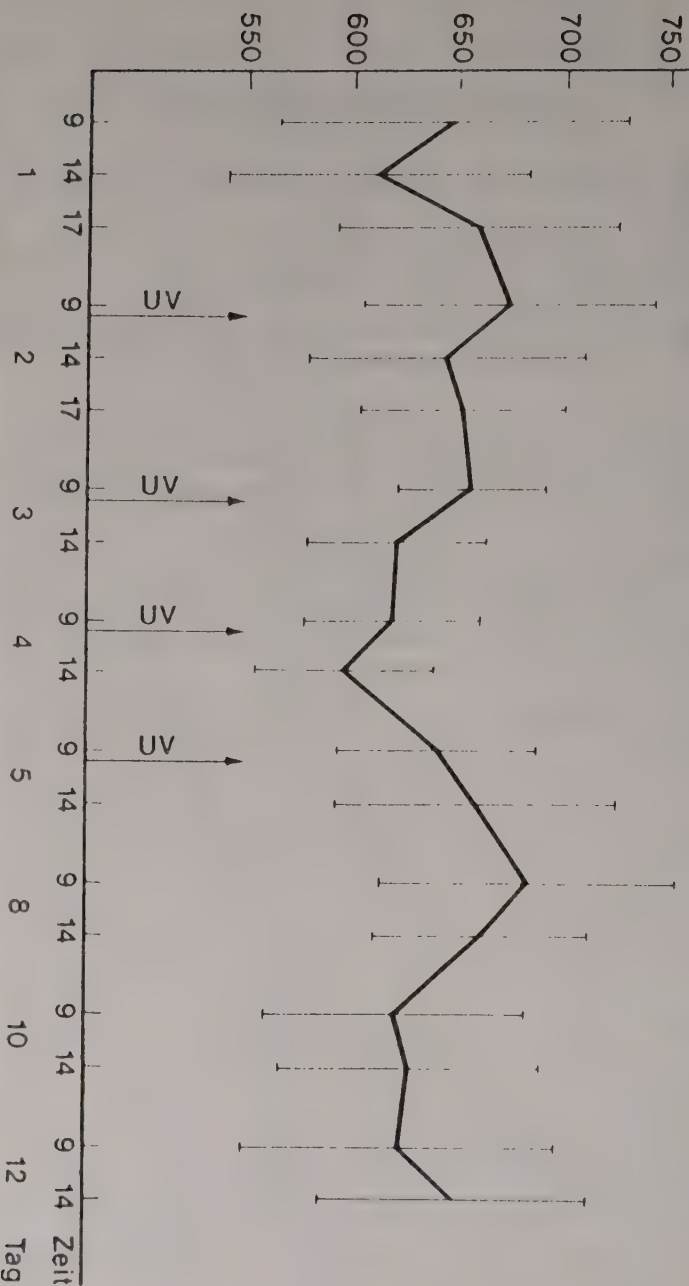


Abb. III.9. PK: Mittelwerte im Erythrozyten nach UVA-Bestrahlung (n = 8)

I.U.
mmolHb

PFK - UVB

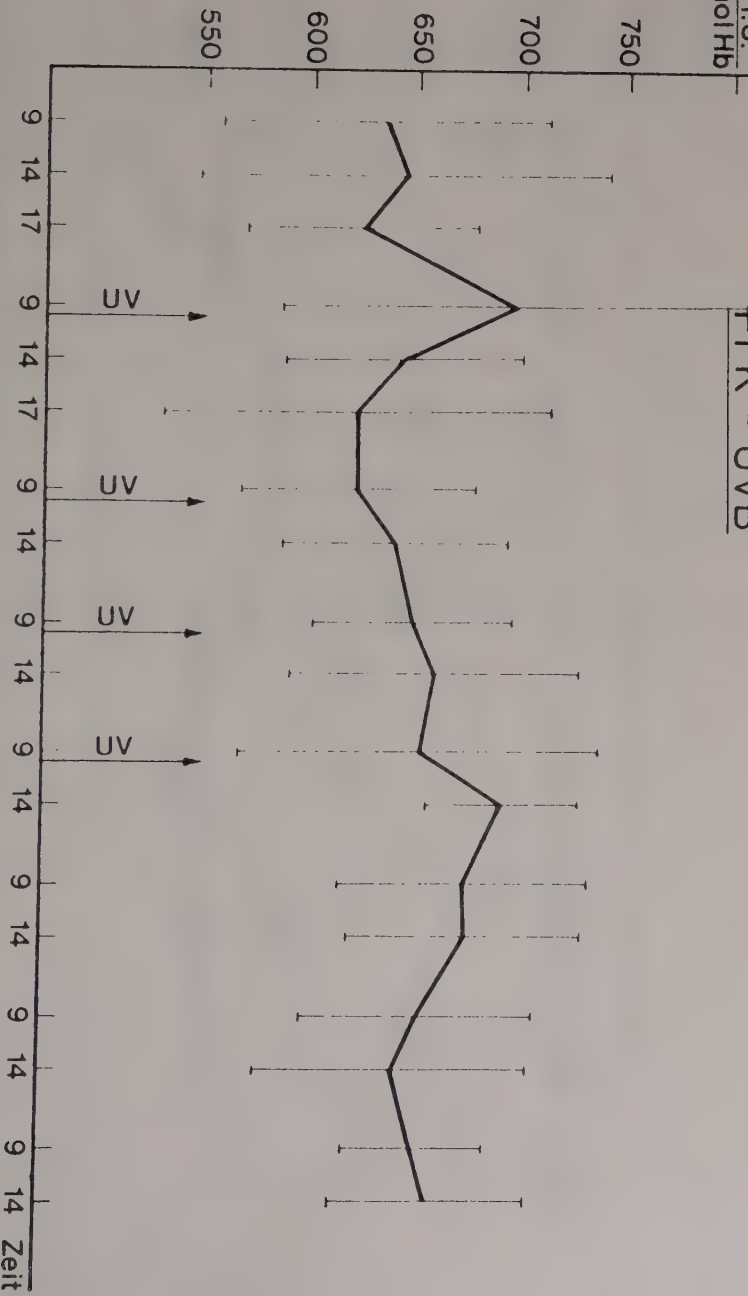


Abb. III. 10. PFK: Mittelwerte im Erythrozyten nach UVB-Beirahlung (n = 8)

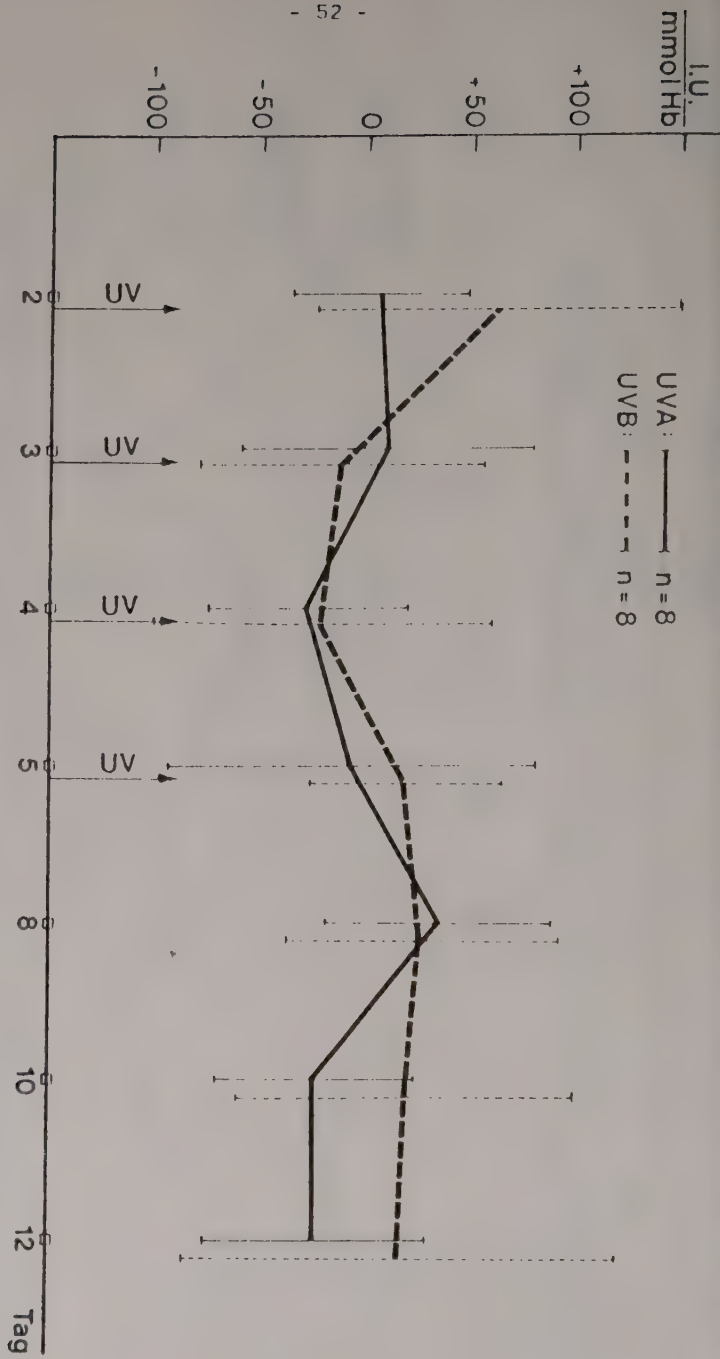


Abb. III.11. PFK: Abweichung (Δ) der Beobachtungstage vom Bezugstag - 9⁰⁰Uhr-Werte

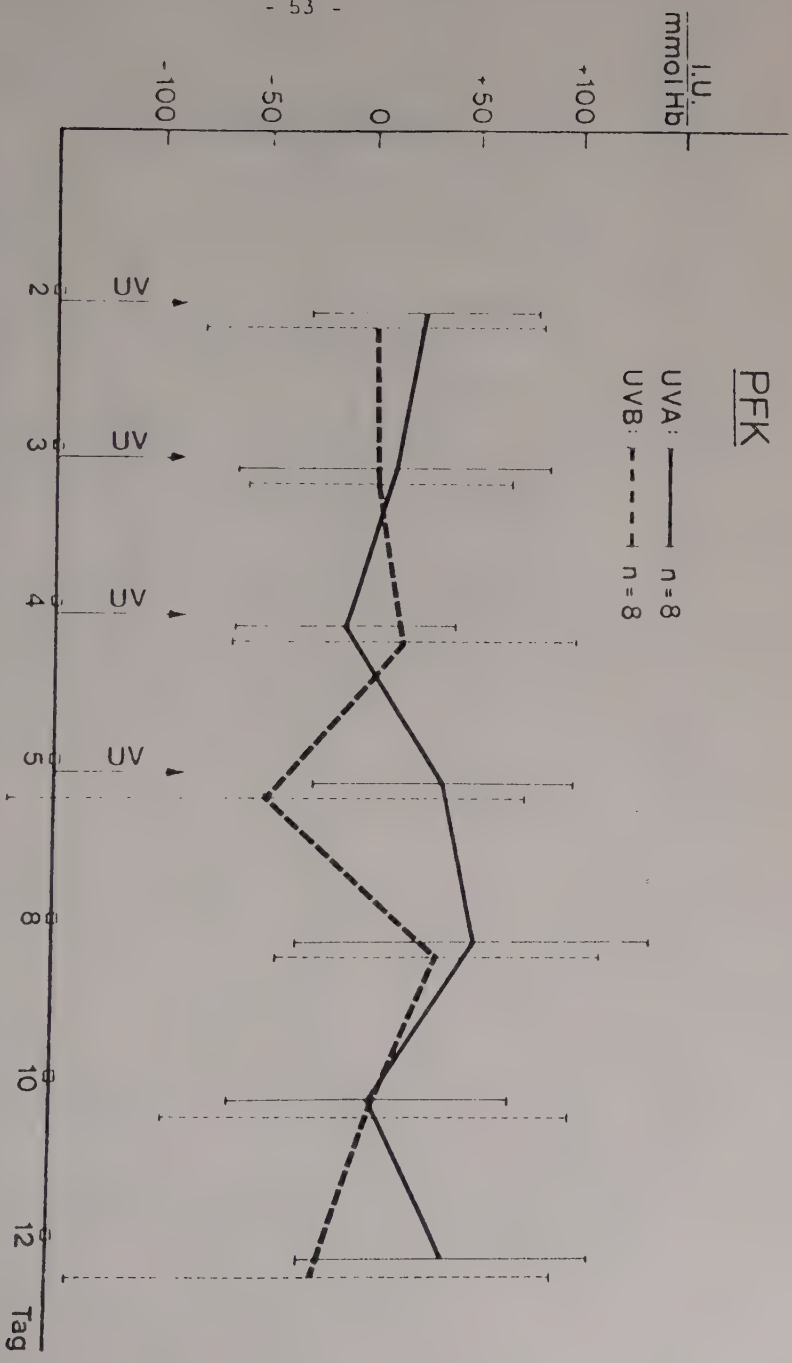


Abb. III.12. PFK: Abweichung (Δ) der Beobachtungstage vom Bezugstag - 14⁰⁰Uhr-Werte

		$1\frac{1}{2}-9^{00}$	$1\frac{1}{2}-14$	$1\frac{1}{2}-17$	$1\frac{1}{3}-9$	$1\frac{1}{3}-14$	$1\frac{1}{4}-9$	$1\frac{1}{4}-14$	$1\frac{1}{5}-9$
UV-A									
Δ		+7	+33	-6	+10	+10	-28	-14	-6
δ		41	54	52	69	73	47	51	86
UV-B									
Δ		+62	0	-2	-11	+2	-20	+14	+18
δ		85	80	81	66	62	79	81	45
		$1\frac{1}{5}-14$	$1\frac{1}{8}-9$	$1\frac{1}{8}-14$	$1\frac{1}{10}-9$	$1\frac{1}{10}-14$	$1\frac{1}{12}-9$	$1\frac{1}{12}-14$	
UV-A									
Δ		+33	+34	+49	-24	0	-23	+36	
δ		62	53	83	47	66	52	68	
Δ		-50	+27	+31	+19	-1	+16	-26	
δ		122	64	77	78	95	102	113	
UV-B									

Tab. III.3.

PFK: Abweichung (Δ) der Beobachtungstage vom Bezugstag (δ =Standardabweichung)

4. Der anorganische Phosphor

Der Mittelwert der Bezugs- und Beobachtungstage lag bei 1,36 mmol/l und damit innerhalb des angegebenen Normalbereiches.

Bei den einzelnen Kurvenverläufen gab es keine auffälligen Schwankungen oder Abweichungen.

In Abb. III.13. und III.14. ist der Verlauf nach UVA- bzw. UVB-Bestrahlung wiedergegeben.

Hier bewegt sich die Kurve in relativ gleichmäßigen Schwankungen innerhalb des Normalbereiches.

Abb. III.15. und III.16. zeigen die Abweichung der Beobachtungstage vom Bezugstag um 9⁰⁰ und 14⁰⁰ Uhr. Hier zeigt sich lediglich am 12. Tag um 9⁰⁰ Uhr nach der UVA-Bestrahlung ein schwach signifikanter Anstieg. Ansonsten gab es neben kleinen Schwankungen um die Nullachse keine Tendenzen.

In Abb. III.4. sind die Einzelwerte aufgeführt.

Serum-Phosphor - UVA

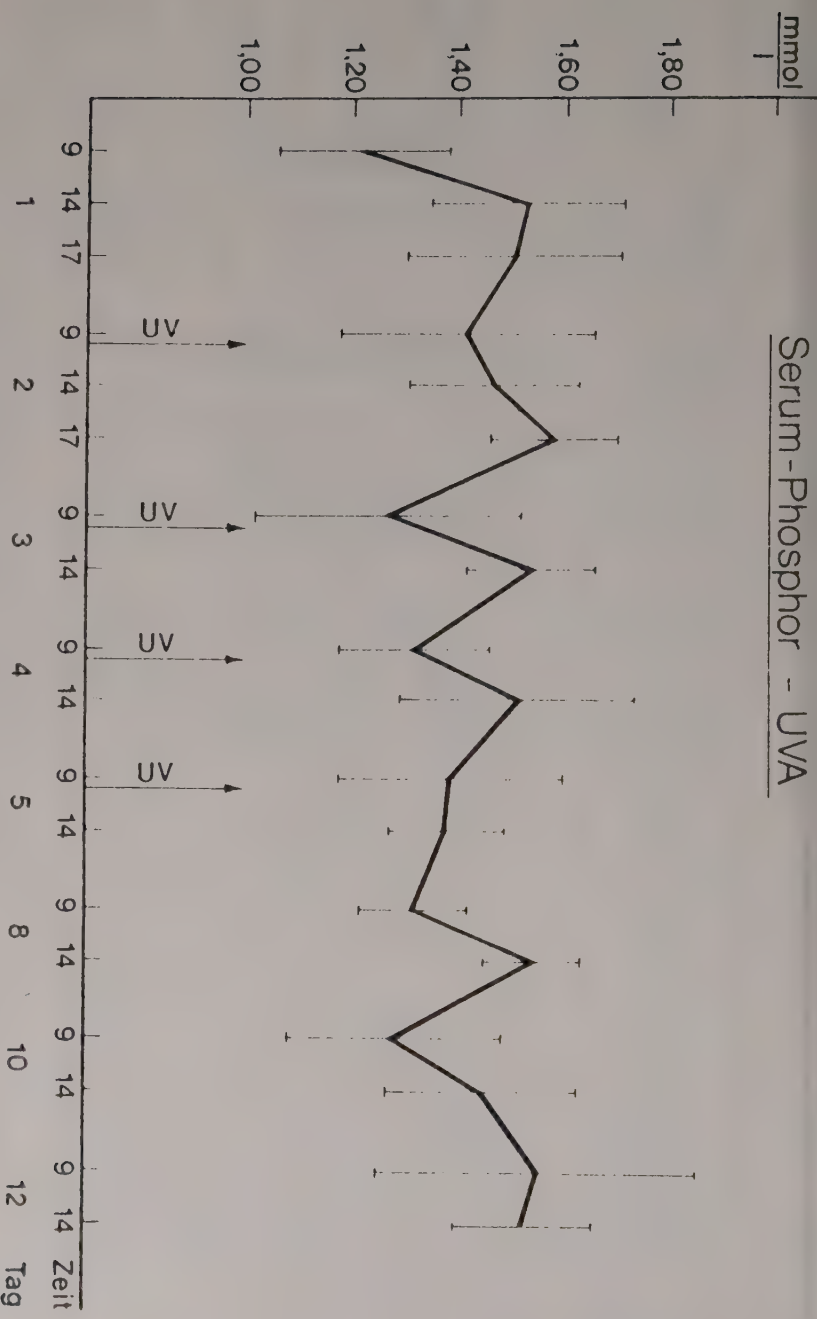


Abb. III.13. Serum-Phosphor: Mittelwerte nach UVA-Bestrahlung (n = 8)

Serum-Phosphor - UVB

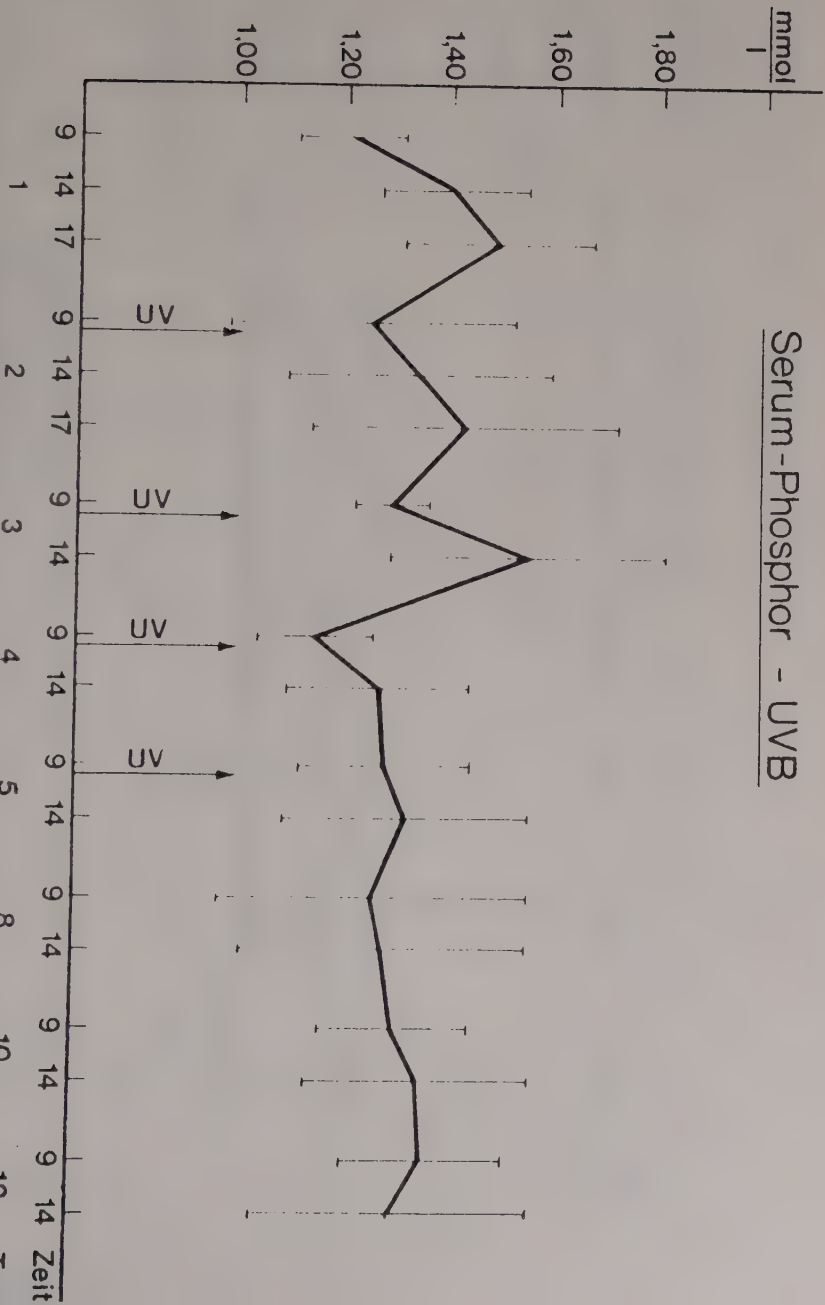


Abb. III. 14. Serum-Phosphor: Mittelwerte nach UVB-Bestrahlung (n = 8)

Phosphor

UVA: — n = 8
UVB: - - - n = 8

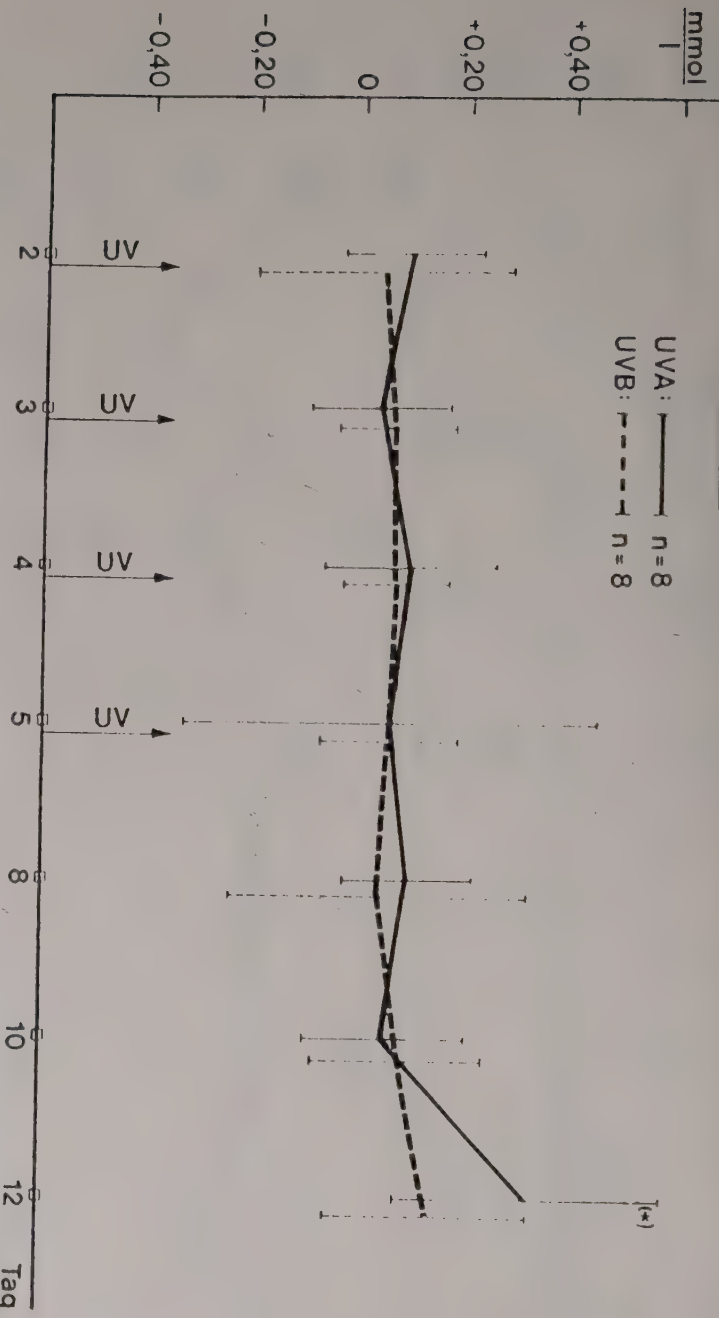


Abb. 11.15. Serum-Phosphor: Abweichung (Δ) der Beobachtungstage vom Bezugstag - 9⁰⁰Uhr-Werte

Phosphor

UVA: — n = 8
UVB: - - - n = 8

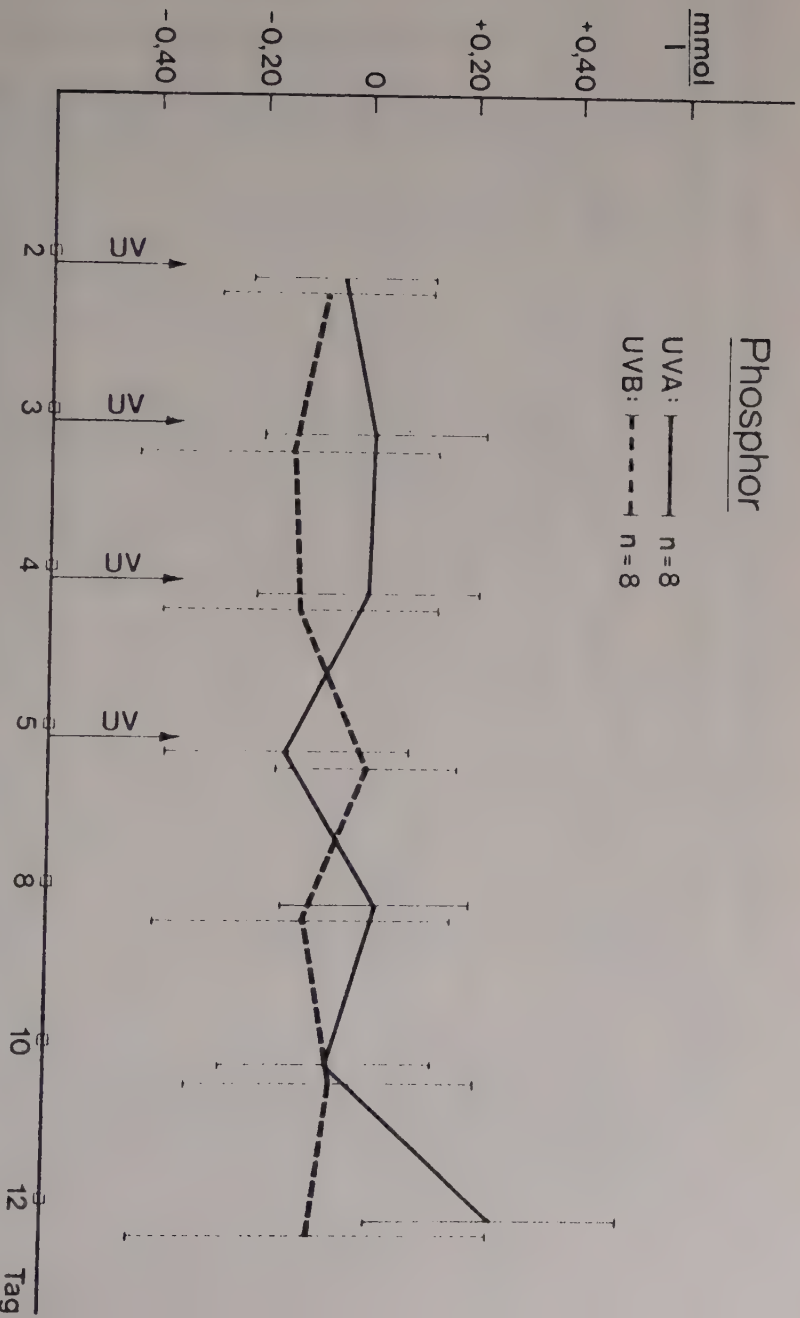


Abb. III.16. Serum-Phosphor: Abweichung (Δ) der Beobachtungstage vom Bezugstag - 14⁰⁰-Werte

	$\frac{1}{2}-9^{00}$	$\frac{1}{2}-14$	$\frac{1}{2}-17$	$\frac{1}{3}-9$	$\frac{1}{3}-14$	$\frac{1}{4}-9$	$\frac{1}{4}-14$	$\frac{1}{5}-9$
UV-A								
Δ	+0,10	-0,05	+0,07	+0,04	+0,01	+0,10	0	+0,06
σ	0,13	0,17	0,23	0,13	0,21	0,16	0,21	0,39
UV-B								
Δ	+0,04	-0,08	+0,07	+0,07	-0,15	-0,07	-0,13	+0,06
σ	0,24	0,20	0,22	0,11	0,28	0,10	0,26	0,13
	$\frac{1}{5}-14$	$\frac{1}{8}-9$	$\frac{1}{8}-14$	$\frac{1}{10}-9$	$\frac{1}{10}-14$	$\frac{1}{12}-9$	$\frac{1}{12}-14$	
UV-A								
Δ	-0,15	+0,10	+0,02	+0,06	-0,07	+0,33 ^(*)	+0,25	
σ	0,23	0,12	0,18	0,15	0,20	0,25	0,24	
UV-B								
Δ	0	+0,04	-0,12	+0,08	-0,06	+0,14	-0,10	
σ	0,17	0,28	0,28	0,16	0,27	0,19	0,34	

Tab. III.4. Serum-Phosphor: Abweichung (Δ) der Beobachtungstage vom Bezugstag

5. Das Calcium

Die Mittelwerte lagen in der Untersuchung sowohl am Bezugstag als auch am Beobachtungstag bei durchschnittlich 4,83 mval/L, was dem Normalbereich entspricht. Bei den einzelnen Verläufen gab es weder nachweisbare Tagesrhythmen noch auffällige Abweichungen.

In Abb. III.17. und III.18. sind die Verläufe unter UVA- bzw. UVB-Bestrahlung dargestellt.

Die Abweichungen der Beobachtungstage verglichen mit den Bezugstagen um 9⁰⁰ und 14⁰⁰ Uhr (Abb. III.19. und III.20.) zeigen geringfügige, statistisch nicht signifikante Schwankungen um die Nullachse ohne eindeutige Tendenz.

Tab. III.5. zeigt die einzelnen Werte.

Serum - Calcium - UVA

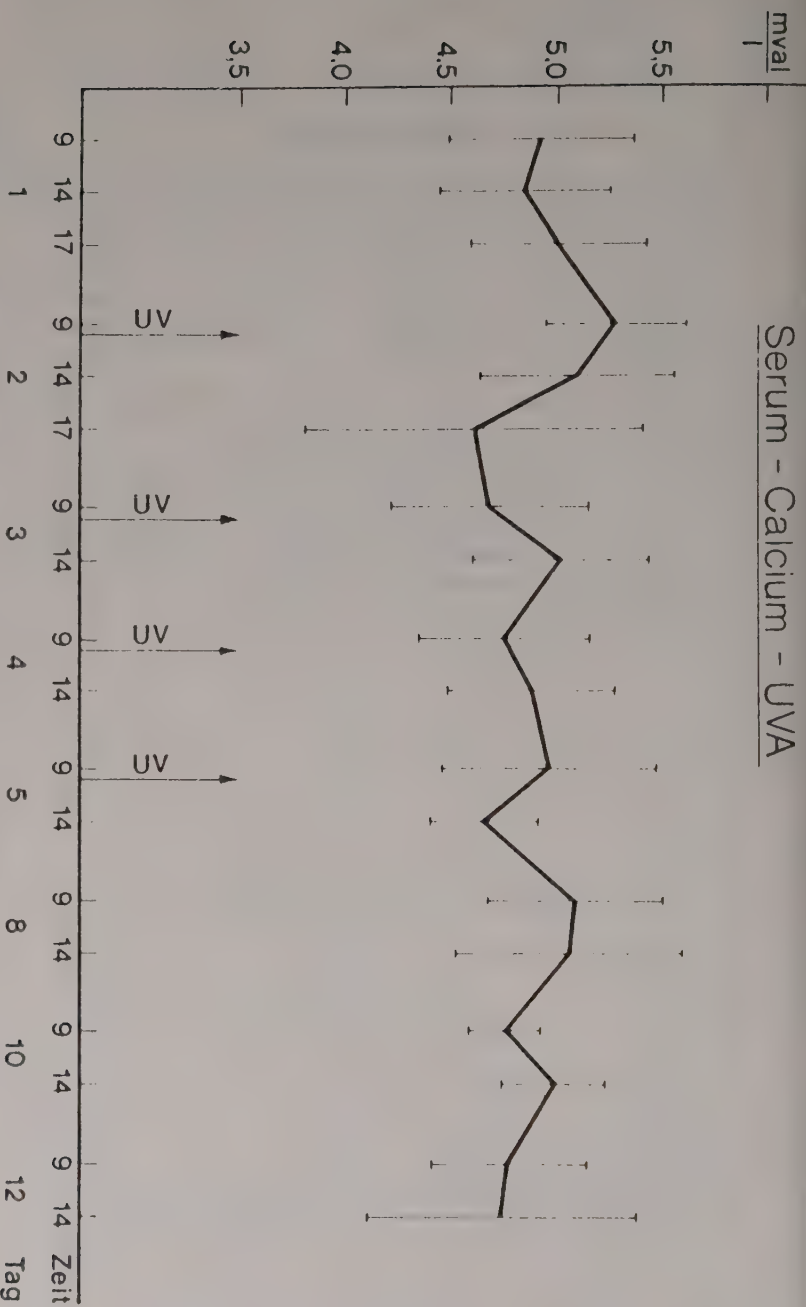


Abb. III.17. Serum-Calcium: Mittelwerte nach UVA-Bestrahlung (n = 8)

$\frac{\text{mval}}{\text{l}}$

Serum - Calcium - UVB

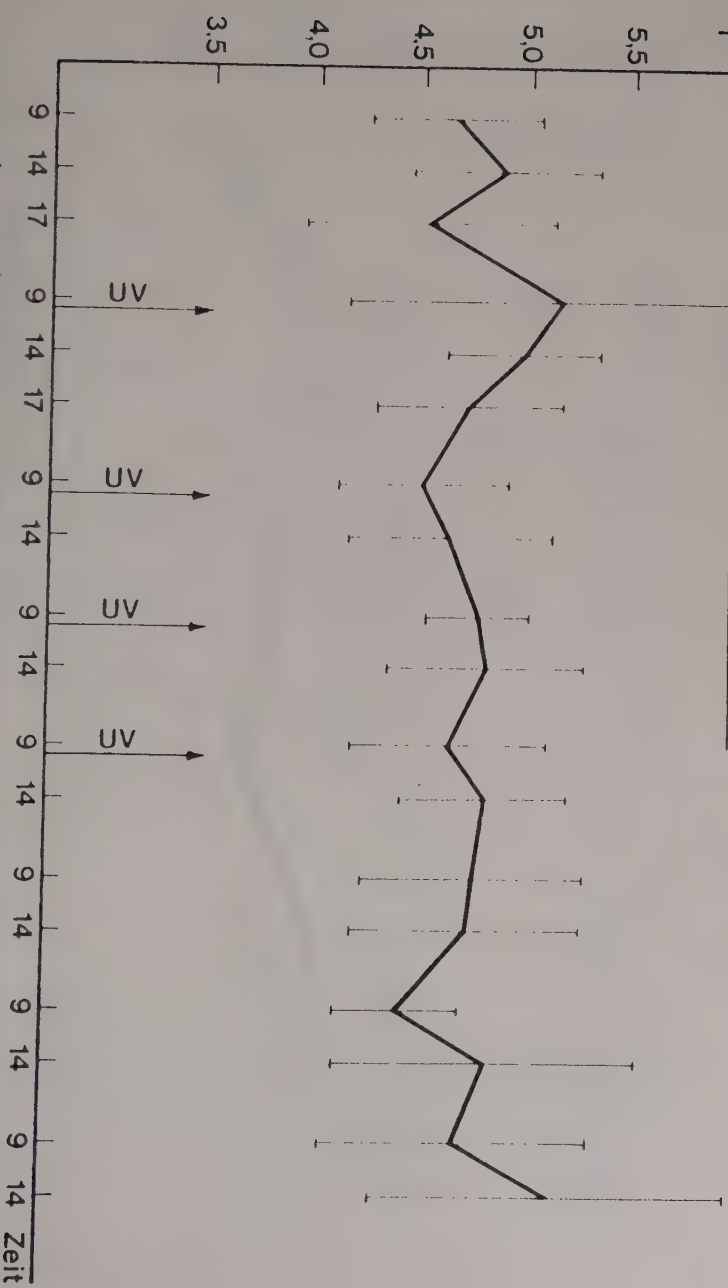


Abb. III. 18. Serum-Calcium: Mittelwerte nach UVB-Bestrahlung (n = 8)

Calcium

UVA: — n = 8
UVB: - - - n = 8

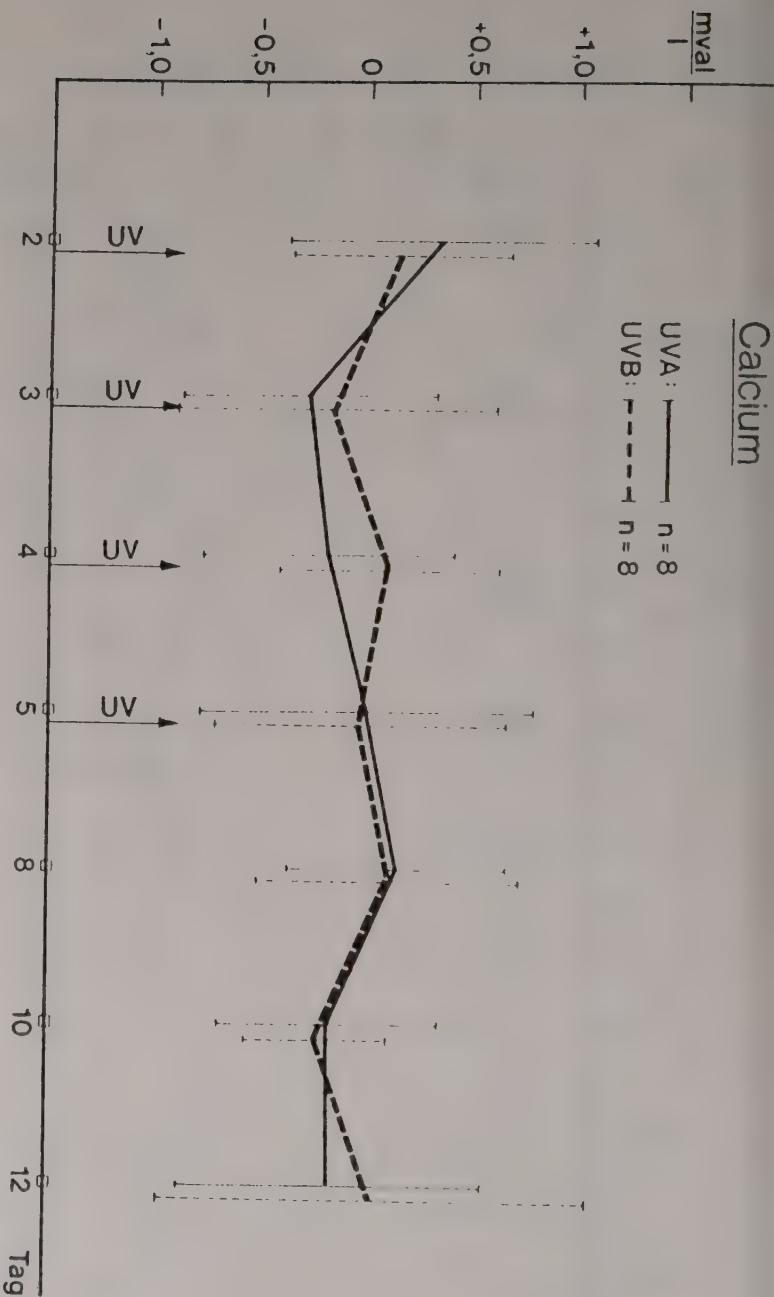


Abb. III.19.

Serum-Calcium: Abweichung (Δ) der Beobachtungstage von Bezugstag -9⁰⁰-Werte

Calcium

UVA: — n = 8
UVB: - - - n = 8

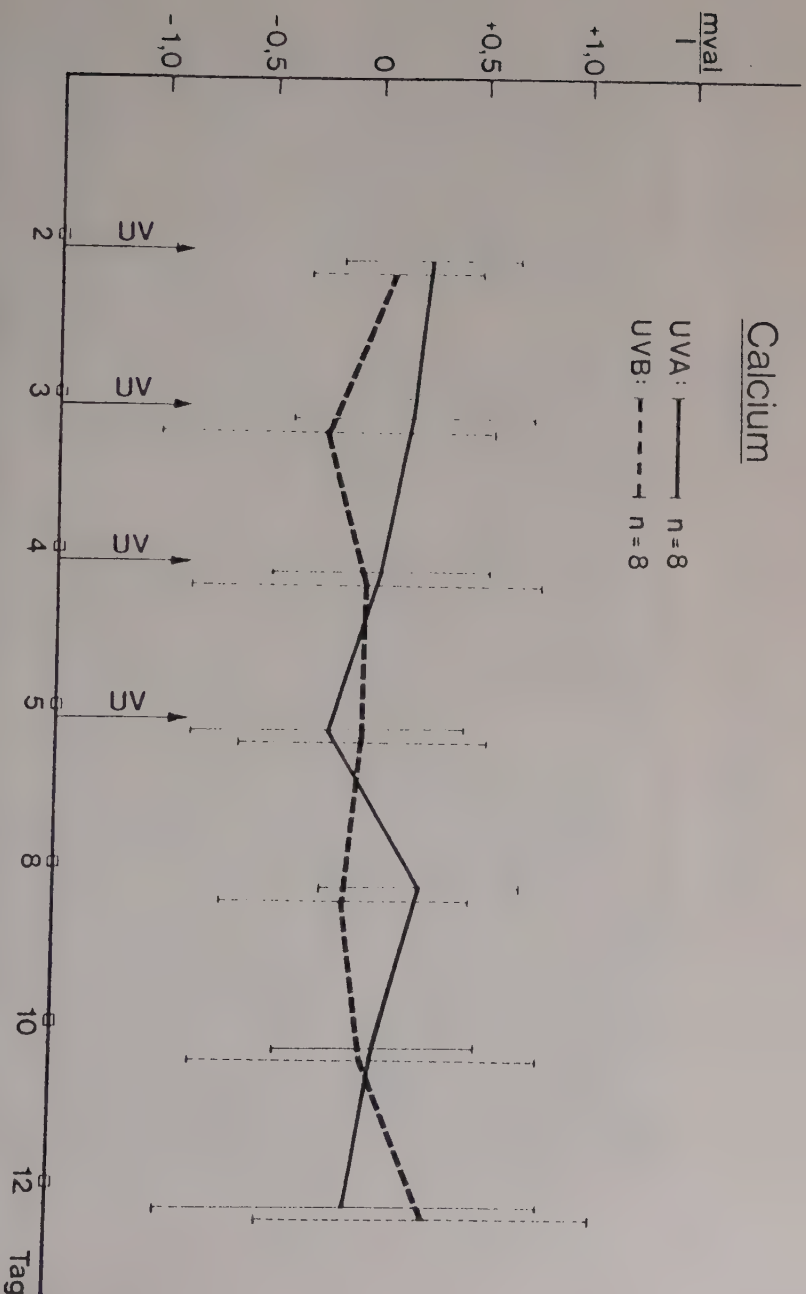


Abb. III. 20. Serum-Calcium: Abweichung (Δ) der Beobachtungstage vom Bezugstag - 14⁰⁰Uhr-Werte

	$\frac{1}{2}-9^{00}$	$\frac{1}{2}-14$	$\frac{1}{2}-17$	$\frac{1}{3}-9$	$\frac{1}{3}-14$	$\frac{1}{4}-9$	$\frac{1}{4}-14$	$\frac{1}{5}-9$
UV-A	Δ	+0,35	+0,24	-0,18	-0,27	+0,17	-0,17	+0,02
	δ	0,72	0,41	0,38	0,60	0,57	0,60	0,52
UV-B	Δ	+0,17	+0,07	+0,08	-0,13	-0,24	+0,11	-0,05
	δ	0,51	0,40	0,96	0,75	0,78	0,52	0,82
		$\frac{1}{5}-14$	$\frac{1}{8}-9$	$\frac{1}{8}-14$	$\frac{1}{10}-9$	$\frac{1}{10}-14$	$\frac{1}{12}-9$	$\frac{1}{12}-14$
UV-A	Δ	-0,22	+0,16	+0,22	-0,16	+0,02	-0,15	-0,10
	δ	0,64	0,52	0,47	0,52	0,45	0,72	0,90
UV-B	Δ	-0,06	+0,12	-0,13	-0,22	-0,04	+0,05	+0,27
	δ	0,58	0,62	0,58	0,34	0,82	1,01	0,79

Tab. III.5. Serum-Calcium: Abweichung der Beobachtungstage vom Bezugstag

IV. Diskussion

Wie wir aus den Ergebnissen sehen, kommt einer UV-Strahlung unter den von uns verwendeten Bedingungen keine Wirkung auf die untersuchten Parameter, weder kurzfristig noch nach der Bestrahlungsserie, zu.

Es sollen im folgenden die Befunde mit bisher veröffentlichten Untersuchungen und Ergebnissen verglichen und besprochen werden.

Dabei wird besonderer Bezug auf eine Untersuchung von HUMPELER et. al. (1982) genommen, die den Einfluß von Ganzkörper-UV-Strahlung mit einem Hauptanteil im UV-B-Bereich auf die Sauerstoffbindung des Erythrozyten nach einem Zeitraum von 4 Stunden untersucht.

In der vorliegenden Arbeit wird dies ausgeweitet, indem die Parameter sowohl unter verschiedenen UV-Spektren als auch über einen Zeitraum von 2 Wochen hinweg untersucht werden. Ferner wird versucht, durch mehrmalige Bestrahlung eine evtl. Summation des möglichen Effektes zu erreichen.

HUMPELER et. al. (1982) erreichten unter ihren Versuchsbedingungen einen signifikanten Anstieg aller Parameter, die auch wir untersucht haben. Für die Autoren galt somit die kausale Verknüpfung als nachgewiesen.

Im Gegensatz zu unserer Arbeit wurde hier als Bestrahlungsmodus eine Aneinanderreihung von 28 Sylvania-Fluoreszenzlampe mit einem relativ weiten Spektrum von 280 - 350 nm und einem Maximum bei 313 nm, also an der Grenze von UVB zu UVA, gewählt. Die Bestrahlungsdosis der Ganzkörperbestrahlung, ermittelt durch die MED, lag im Durchschnitt bei 19,2 ($\pm$ 5,1) mJ/cm².

In unserer Arbeit erreichten wir durch die Unterteilung in die beiden Bereiche zwei Maxima, die in der Hauptsache im jeweiligen UVR- bzw. UVA-Bereich lagen (siehe Kap. II.1.). Die verwendete Bestrahlungsdosis entsprach derselben wie bei HUMPELER et.al.

1. Die Calciferole

So ist denkbar, daß HUMPELER et.al.(1982) unter der Annahme, daß dieser Bereich sehr eng ist, mit ihrem Maximum des Emissionsspektrums quantitativ höher und damit wirkungsvoller im Absorptionsbereich der Calciferolsynthese liegen als unsere spektrale Verteilung. Insgesamt wurde bei beiden Untersuchungen etwa die gleiche Bestrahlungsdosis appliziert.

Nach LAWSON et DAVIE (1981) liegt der Bereich der Calciferolsynthese bei 296 nm.

ROGERS et.al. (1979) kamen zu dem Ergebnis, daß auch das langwellige UVA-Spektrum zu einer Calciolantwort führen kann. Jedoch kamen die Autoren im Rahmen einer Untersuchung bei einer PUVA-Behandlung bei Psoriatikern zu diesem Ergebnis, im Rahmen derer eine Modifikation der Strahlenwirkung, aber auch eine Verstärkung durch die damals in den verwendeten Geräten vorkommende Rest-UVR-Strahlung durchaus denkbar ist.

Dies wird durch die Tatsache untermauert, daß in unserem UVA-Versuchsteil, wo ein relativ neuartiges Ganzkörperbestrahlungsgerät mit vernachlässigbarer UVR-Reststrahlung verwendet wurde, kein Effekt nachgewiesen werden konnte.

ADAMS et.al. (1982) erreichten mit der Verwendung von Westinghouse-Fluoreszenzlampe mit einem Maximum bei 313 nm einen Effekt auf die Calciferolsynthese. Andere vergleichbare Untersuchungen bedienten sich der natürlichen Sonnenstrahlung (LUND et.al. 1979; CICH et.al. 1979), die im Gegensatz zur künstlichen

UV-Strahlung ein kontinuierliches UV-Spektrum über größere Bereiche liefert (PARRISH et.al. 1978).

Da, wie in unserer Arbeit nachgewiesen werden konnte, die verwendete Strahlungsart und -dosis keinen meßbaren Effekt im Sinne einer Veränderung von Serumspiegeln für Calcium und anorganischen Phosphor erbrachte, stellt sich die Frage nach deren Regulation bzw. den Calciferolen.

Geht man davon aus, daß eine UV-induzierte Calciferolantwort besteht, bedeuten die einzelnen Synthesestufen verschiedene Stärken der Wirksamkeit, die an der Potenz, eine Avitaminose zu verhindern, gemessen wird. Dabei ist das Calcidiol 2- bis 5mal stärker als das Cholecalciferol, und das Calcitriol wiederum 2- bis 5mal stärker als ersteres (nach LERO 1983).

Da das stark aktive Calcitriol unter der regulativen Wirkung der 2-d-Hydroxylase gebildet wird und diese wiederum durch Parathormon und einige andere Faktoren (siehe Kap. 1.3.2.) dem Bedarf an Serum-Calcium und -Phosphat angepaßt wird, ist unter den hier untersuchten, nicht pathologischen Verhältnissen denkbar, daß bei ungestörter Gegenregulationsfähigkeit der Organismus nur so viel aktives Calcitriol bildet, wie für die Erhaltung der Homöostase notwendig ist. So steht die Frage offen, ob es unter physiologisch gesunden Bedingungen zu einer anderen Antwort als unter pathophysiologischen kommt.

Nach Messungen an gesunden Versuchspersonen unter jahreszeitlich bedingter vermehrter Sonnenexposition bzw. Aufenthalt in tropischen Gebieten, bei denen es zu einem Anstieg des Calcidiols kam (STAMP et.al. 1974; CHILSNBY et.al. 1981), untersuchten ADAMS et.al. (1982) unter künstlich erzeugten UV-Bedingungen.

Sie fanden in ihrer vergleichenden Studie von gesunden und Calciferol-defizienten Versuchspersonen, daß zwar eine von der UV-Intensität abhängige Calciferolantwort existiert, diese aber bei den defizienten Patienten um das 3- bis 4fache stärker ausfällt. Weiter entdeckten sie, daß bei gesunden Probanden, die mit einfacher MFD am ganzen Körper bestrahlt wurden, nach 24 bis 48 Stunden ein Cholecalciferolanstieg bestand, aber beim Maximum der Antwort des Calcidiols nach etwa 14 Tagen bereits kein Dosiszusammenhang mehr nachgewiesen werden konnte. Erst die 4fache MFD brachte einen vorübergehenden Anstieg des Calcitriols, was bei einfacher MFD nicht erreicht wurde. Ebenso blieb eine Veränderung des Calciums im Serum bei gesunden Probanden mit einfacher MFD aus.

Es besteht die Vermutung, daß unter physiologisch gesunden Bedingungen die durch UV-Strahlung vermehrt gebildeten Calciferole bereits in weniger aktiven Vorstufen liegenbleiben bzw. nach FORD (1983) bei vermindertem Bedarf in das 24,25-DH-D3 mit geringerer Wirksamkeit überführt werden.

Weiter steht im untersuchten Reaktionsablauf die Bildung eines weiteren, den Calciferolen verwandten Stoffes, das Dihydratachysterin (DHT) zur Diskussion. Es besteht nach derzeitigen Untersuchungen die Hypothese, daß dieses nicht der rückgekoppelten 1- α -Hydroxylase unterliegt und somit beliebig gebildet werden kann. Seine Wirkungspotenz wäre im Vergleich zu Cholecalciferol äußerst gering (zusammengefaßt nach FORD 1982).

Auf alle Fälle sollte bei der Untersuchung der Calciferolantwort zwischen den einzelnen Zwischenstufen unterschieden werden, da beispielsweise eine Cholecalciferolantwort nicht zugleich eine Calcitriolantwort zur Folge hat, das letztere jedoch erst das eigentlich wirkungsvolle Produkt darstellt.

Eine Untersuchung von BRICKMANN et.al. (1972) zeigte, daß beispielsweise ein Absinken des Calcitriols im Serum zu einer Reduktion der Absorption von Calcium im Darm führt.

Nach ZELM et.al. (1979) wurde bei 20 Versuchspersonen nach einem dreiwöchigen Sonnenurlaub zwar ein signifikanter Anstieg des Calcidiols gemessen, jedoch kam es zu keinem Einfluß auf das Urin-Calcium, als Zeichen eines gesteigerten Calcium-Metabolismus durch Calciferole. Ebenfalls kam es diesbezüglich nach Untersuchungen von TOSS et.al. (1982) nach einer UV-Bestrahlungsdosis von insgesamt 160 J/cm^2 über 12 Wochen zu einem Anstieg des Calcidiols, was andere Untersuchungen bestätigten (CORLESS et.al. 1978; SNELL et.al. 1978), jedoch kam es zu keiner Änderung des Phosphates im Serum und der Calcium-Bilanz.

Somit wäre anzunehmen, daß ein starker regulativer Einfluß auf die Calcitriolproduktion über die 1-d-Hydroxylase besteht bzw. das Serum-Calcium auch über das Parathormon konstant gehalten wird.

Um diesen Regelmechanismus genauer zu erleuchten, wäre in unserem Fall unter Umständen eine Messung des Parathormons und der Calciferole in Erwägung zu ziehen. Dies stößt bei Parathormon in Anlehnung an eine Arbeit von OFFERMANN et BIELER (1978) auf Schwierigkeiten, da die Feinregulation des Parathormons durch ungenügende Meßgenauigkeit schwer zu erfassen ist bzw. eine Veränderung erst unter schweren pathologischen Bedingungen sichtbar wird.

Ferner wäre es möglich, daß sich die Calcium- und Phosphorantwort indirekt in der Ausscheidung bei der Bilanz ausdrückt. So erreichten SOMMER-TSILENTIS et.al. (1979) bei Psoriasispatienten zwar einen signifikanten Anstieg des Calcidiols bzw. ein nicht verändertes Calcium im Serum nach UV-Bestrahlung, dafür lag aber eine erhöhte Ausscheidung von Calcium im Urin vor.

Nach HUMPELER et.al. (1982) kam es unter UV-Bestrahlung zu einem Anstieg des Calciums und des Phosphates im Serum um etwa 15 % im Vergleich zum Ausgangswert. Dies kann aus den zuvor genannten Gründen nicht direkt nur mit den Calciferolen in Verbindung gebracht werden, sondern es sollte auch nach anderen Faktoren gesucht werden.

So konnte beispielsweise zwar noch kein signifikanter Einfluß von UV-Strahlung auf Hormone wie Östrogene und Cortisolprodukte nachgewiesen werden, jedoch geben Arbeiten von HICKE (1986) und SIEGENTHALER et.al. (1982) zumindest Hinweise auf tendentielle Beeinflussungen.

Eine Beeinflussung der Calcium-Phosphat-Homöostase durch UV-Bestrahlung mit entsprechendem signifikanten Anstieg der Serumwerte innerhalb zwei Wochen, wobei als Zwischenschritt der Cholecalciferolstoffwechsel angenommen wurde, konnte in unseren Untersuchungen nicht nachgewiesen werden. Wie aufgeführt entspricht dies einer Reihe von Untersuchungen, die partiell auf die entsprechenden von uns postulierten Zwischenschritte eingehen.

2. Der Erythrozytenmetabolismus

In unserer Arbeit gingen wir davon aus, daß eine Steigerung der 2-3DPG-Konzentration mit einer Steigerung des gesamten Glykolyseumsatzes einhergeht. Nach BREWER et EATON (1971) ist dieser Weg eher gegeben als isolierte Änderungen einzelner Teilreaktionsschritte bei ansonsten konstantem Glukoseverbrauch. Dies liegt insofern nahe, als unter letzterer Annahme das 2-3DPG auf Kosten des ATP erhöht werden würde (siehe Reaktionsschema Kap. 3.4.3.).

Bestätigung dazu lieferten andere Untersuchungen von BREWER et.al. (1971), wo durch Anämie neben einem Anstieg des 2-3DPG ein erhöhter Glukoseverbrauch im Erythrozyten nachgewiesen wurde. Die unmittelbare Erhöhung des 2-3DPG über eine Steigerung der Glycolyserate wäre direkt durch Messung des 1-3DPG, des Substrates der DPG-Mutase möglich. Da jedoch diese wegen zu geringer Konzentration und Labilität schwer zu untersuchen ist (DUHM et.al. 1968), waren wir auf die Bestimmung der Enzyme in der Schlüsselposition angewiesen.

HUMPELTER et.al. (1982) erhielt in seiner Untersuchung eine Erhöhung des 2-3DPG um etwa 20 - 25 % und eine Steigerung der Aktivität der Schlüsselenzyme PK und PFK um etwa 30 % im Vergleich zum Ausgangswert, was auf den Anstieg des Phosphates im Serum zurückgeführt wurde. In unserer Arbeit blieb das 2-3DPG unverändert, was aufgrund des unbeeinflussten Serum-Phosphates zu erwarten war.

Eine Arbeit von BREWER (1969) wies darüber hinaus einen negativen Rückkoppelungsmechanismus des 2-3DPG auf die Hexokinaseaktivität nach, welche ferner über Magnesium und ATP moduliert werden kann.

So besteht durch das 2-3DPG auch eine regulatorische Kontrolle der Glykolyse, die unter nichtpathologischen Bedingungen möglicherweise einem Ungleichgewicht der Homöostase entgegenwirken.

Bei einer Erhöhung der 2-3DPG-Konzentration als Folge einer Erhöhung des Serum-Phosphates sollte auch allen anderen möglichen Einflüssen auf die Steigerung der 2-3DPG-Synthese Rechnung getragen werden. Dies trifft neben der veränderten Sauerstoffsättigung unter beispielsweise externen Bedingungen, wie Höhenanpassung, auch auf den Blut-pH zu (nach BREWER 1971).

So gibt es neben noch nicht erforschten Mechanismen einen Einfluß des Serum-pH auf (zusammengefaßt nach BREWER et FATON 1972):

- 1) die Bindung des 2-3DPG an das Hämoglobin mit Rückwirkung auf die Synthese
- 2) also auch auf die DGP-Mutase und die DPG-Phosphatase
- 3) den Umsatz der Glykolyse.

Auch nach ASTRUP (1970) besteht eine positive Korrelation zwischen dem Blut-pH und der 2-3DPG-Konzentration im Erythrozyten, wobei ein Anstieg des pH um 0,01 Einheiten einer Erhöhung des 2-3DPG um 3,8 % entspricht. Daß zugleich auch ein Einfluß des Serum-Phosphors auf das 2-3DPG besteht, bestätigten ASTRUP et.al. (1970) in einer anderen Untersuchung, wo bei Patienten mit pathologisch erhöhten Phosphorwerten das 2-3DPG eine höhere Konzentration aufwies, als von Seiten des Blut-pH zu erwarten war. Nach anderen Autoren (ROSE 1971; BURR 1972) kann schon durch eine leichte Verschiebung des pH in Richtung Alkalose über die PFK, die sehr sensitiv auf pH-Schwankungen reagiert, eine Steigerung der Glykolyserate bewirkt werden.

ASTRUP (1970) nahm an, daß darüber hinaus noch weitere Einflüsse existieren, da in seiner Untersuchung bei Patienten mit Urämie und Anämie trotz metabolischer Azidose ein erhöhtes 2-3DPG vorhanden war.

Zusammenfassend haben wir es also mit einer Reihe von Einflußgrößen in teils wechselseitiger, teils unabhängiger Beziehung zu tun, die unter gegebenen Voraussetzungen nicht direkt in Beziehung zu setzende Effekte verursachen.

Doch betrachten wir unabhängig davon die Beziehung Phosphat zu 2-3DPG noch etwas genauer:

Vom Serum-Phosphat wird angenommen, daß ein Anstieg die 2-3DPG-Produktion stimuliert, indem es die ATP-Inhibition auf die PFK abschwächt (ROSE et.al. 1964). Im Anschluß an die Untersuchungen von ASTRUP et.al. (1970) über den Zusammenhang von Serum Phosphat und 2-3DPG haben MOORE et.al. (1977) in ihren Experimenten den Serum-Phosphatspiegel pharmakologisch durch orale Gabe von Phosphaten gehoben. Dies war insofern ein Fortschritt zu den bisherigen Untersuchungen, da hier der Phosphateffekt in-vivo an physiologisch gesunden Versuchspersonen über größere Zeiträume untersucht wurde. Dies entspricht den in unserem Versuch angenommenen Voraussetzungen.

Als Ergebnis kam es nach etwa 2 - 3 Tagen nach Phosphatgabe infolge des Serum-Phosphatanstiegs, der innerhalb 6 Stunden erschien, zu einer Erhöhung des 2-3DPG um etwa 6 %. Im Gegensatz zu HUMPHREY et.al. (1962), der bereits 4 Stunden nach UV-Bestrahlung einen Phosphat- bzw. 2-3DPG-Anstieg um etwa 15 - 20 % erreichte, konnte bei uns der Befund nicht bestätigt werden, da es unter unseren Bedingungen zu keinem Phosphatanstieg kam.

Bemerkenswert war bei der Untersuchung von MOORE et.al., daß das Serum-Phosphat und das 2-3DPG zu keinem Zeitpunkt während der Stimulation korrelierten, ferner, daß sich bei verschiedenen Probanden verschiedene Verläufe ergaben. Während es bei den einen Versuchspersonen zu

einem 2-3DPG-Anstieg bis zu 16 % kam, zeigten andere keine signifikante Veränderungen.

Dies läßt auf eine bisher ungeklärte individuelle Variation der 2-3DPG-Antwort schließen bzw. bestätigt das vorher Genannte, nämlich das Vorhandensein mehrerer wechselseitiger Einflußgrößen, die sich auch aufheben können.

Die beiden Enzyme, die PK und die PFK, wurden über die Messung ihrer Aktivität bestimmt.

Nach ROTH (1974) können generell induzierte Änderungen der Enzymaktivität einerseits durch Veränderung der Bedingungen wie Co-Faktoren, Vitaminen oder Hormone, andererseits durch eine gesteigerte Proteinsynthese stattfinden. In unserem Fall ist zweiteres, nämlich eine quantitative Mehrproduktion, auszuschließen, da der reife Erythrozyt mit seiner Reife durch den Verlust des Zellkernes die Möglichkeit zur Proteinneusynthese verloren hat (nach WINTERBORN 1981). Es kann sich also hier nur um eine qualitative Änderung der Enzymaktivität bei konstanter Quantität handeln.

Zusammenfassung

Nach serieller UVA- bzw. UVB-Bestrahlung von 16 Versuchspersonen mit einer Dosis von 30 J/cm^2 an vier aufeinanderfolgenden Tagen erfolgte eine Beobachtung über einen Zeitraum von 2 Wochen. Dabei wurden unter Berücksichtigung des Tagesrhythmus jeweils 4 und 24 Stunden nach Bestrahlung bzw. zusätzlich nach 7 Stunden am 1. und 2. Beobachtungstag folgende Parameter gemessen: Serum-Calcium, anorganisches Phosphat im Serum, Erythrozytenkonzentration von 2-3 Diphosphoglycerat (2-3DPG) und Aktivität von Pyruvatkinase (PK) und Phosphofruktokinase (PFK) im Erythrozyten.

Es wurde postuliert, daß es über eine UV-induziert gesteigerte Calciferolproduktion der Haut zu einem Anstieg des Serum-Calciums und des Serum-Phosphates kommt, was wiederum über die Aktivierung der Glykolyse zu einer Erhöhung des 2-3DPG führt.

Unter den hier untersuchten Bedingungen ließ sich innerhalb des Zeitraumes von 2 Wochen kein Effekt der UV-Strahlung auf das 2-3DPG und somit auf die Sauerstoffbindungskurve über den angenommenen Mechanismus nachweisen. Der Grund hierfür dürfte sein, daß es bereits auf der Ebene des Calciferol-beeinflußten Calcium- und Phosphatstoffwechsels zu einer physiologischen Regulation mit Konstanz der geprüften Meßgrößen kommt.

Diese Hypothese bezieht sich auf eine Untersuchung von HUMPELER et.al. (1982), der unter ähnlichen Bedingungen einen Anstieg aller untersuchten Parameter erreichte. Der Einfluß einer Serum-Phosphaterhöhung auf die 2-3DPG-Konzentration im Erythrozyten kann in Übereinstimmung aller bisherigen Veröffentlichungen zwar angenommen werden, jedoch gibt, wie unsere Arbeit zeigte, es keinen direkten reproduzierbaren Effekt der UV-Strahlung auf das Serum-Phosphat im Sinne einer Erhöhung in

einem Zeitraum von Stunden bis zwei Wochen. Auf welcher Ebene es im Rahmen der von zahlreichen Komponenten beeinflussten Calcium- und Phosphathomöostase im Serum kommt, wäre beispielsweise anhand der Bestimmung der einzelnen Calciferol-Zwischenprodukte mit entsprechender unterschiedlicher Potenz bzw. anhand der Calcium-Phosphat-Stoffwechselbilanz zu untersuchen. Die von HUMPELIER et.al. (1982) veröffentlichten Ergebnisse können zusammenfassend somit nicht als reproduzierbar angesehen werden. Es ist davon auszugehen, daß der Cholecalciferol-Stoffwechsel und die Calcium-Phosphat-Homöostase einem entsprechend fein abgestimmten Regelmechanismus unterliegen, da unter den von uns untersuchten Bedingungen kein signifikanter Phosphatanstieg resultiert. Dies steht zugleich in Einklang mit einer Reihe zuvor genannter Veröffentlichungen (siehe Kap. IV, 1), die sich jeweils auf die entsprechenden postulierten Schritte beziehen.

V. Literaturverzeichnis

1. ADAMS J.S. Vitamin D synthesis and metabolism after
CLEMENS Th.L. ultraviolet irradiation of normal and vitamin D
PARRISH J.A. defizient subjects
HOLLICK M.F. New.Engl.Journ.of Med. 306, 12, 722 (1985)
2. ASTRUP P. Dependency on acid-base status of oxyhemoglobin
RORTH M. dissociation on 2-3DPG level in human erythrocyte
THORSHAUGE C. Scan.J.clin.Lab.Invest. 47 (1970)
3. ASTRUP P. Red cell metabolism and function
G.Brewer Ed., Plenum New York; 67 (1970)
4. AUBERT J. Methode de mesure des principales voies du
MILHAUD G. metabolisme calcique chez l'homme
Biochem.biophys.Acta 39: 122 (1960)
5. BENESCH R. The effect of organic phosphates from the human
BENESCH R.E. erythrocyte on the allosteric properties of
hemoglobin
Biochem.biophys.Res.Commun. 26: 162 (1967)
6. BENESCH R.E. Biochemistry 8: 2567 (1969)
BENESCH R.
7. BLUM J.W. Parathyroid hormone responses during spontaneous
MAYER G.P. hypocalcemia and induced hypercalci mia in cows
POTTS jr J.T. Endocrinology 5: 84 (1974)
8. BÖNING D. Diurnal variations of protein-electrolyte concen-
SCHWEIGART U. trations and of acid-base status in plasma and
KUNZE M. red cells of normal man
Europ.J.Appl.Physiol. 32: 239 (1974)
9. BRAUN-FALCO O. Dermatologie und Venerologie
Springer-Verlag 1984

10. BREWER G.J. Erythrocyte metabolism and function: hexokinase inhibition by 2-3DPG and interaction with ATP and Mg
Biochem.biophys.Acta 192: 157 (1969)

11. BREWER G. Red cell metabolism and function
EATON J. G.Brewer Ed. Plenum New York: 67 (1970)
VEIL J.

12. BRULS W.A.G. Optical properties of human epidermis
VAN DER LEUN Drukkerij Elinkwijk BV Utrecht (1982)

13. BRICKMANN A.S. Biologic action of 1,25dihydroxycholecalciferol in uremic men
COBURN J.W. J.Clin.Invest. 51: 15a (1972)
NORMAN A.W.

14. BURR M. The relationship between pH and aerobic glycolysis in human and canine erythrocyte
Comp.biochem.physiol. 41b: 687 (1972)

15. CAVALLI-SFORZA L. Biometrie-Grundzüge biologisch medizinischer Statistik
Gustav Fischer Stuttgart 1.Aufl. (1980)

16. CECH P. Influence du soleil sur le taux circulant
GARCIA-PASCUAL B. de 25-hydroxycalciferol chez des sujets normaux en Suisse
COURVOISIER B. Schweiz Med.Wschr.109: 675 (1979)

17. CHANUTIN A. Effect of organic and inorganic phosphates on the oxygen equilibrium of human erythrocytes
CURNISH R.R. Arch.biochem.biophys. 121: 96 (1967)

18. CHESNEY R.W. Absence of seasonal variation in serum concentrations of 1,25dihydroxy-vitamin D despite a rise in 25-hydroxy-vitamin D in summer
DOSEN J.F. J.Clin.Endocrinol.Metab. 53: 139 (1981)
HAMSTRA A.J.
SMITH C.

19. COMMISSION INTERN. Empfehlung für die Gesamtbestrahlungsstärke
DE L'ECALRAGE und die spektrale Verteilung künstlicher Sonnen-
CIE bestrahlung für Prüfzwecke
Prb. CIE Nr.20: 28 (1972)
20. CORLESS D. Response of plasma 25-hydroxy-vitamin D to
GUPTA S.P. UV-irradiation in long-stay geriatric patients
SWITALA S. Lancet 2: 649 (1978)
21. DEUTICKE B. Maximal elevation of 2-3DPG concentrations
DUHM J. in human erythrocytes
DIERESMANN R. Pflüger Arch. 326: 315 (1971)
22. DUHM J. Abhängigkeit der 2-3DPG-Synthese im menschlichen
DEUTICKE B. Erythrozyten von der ADP Konzentration
GERLACH E. Pflügers Arch. 306: 329 (1968)
23. EATON J. Red cell metabolism and funktion
BREWER G. G.Brewer Ed. Plenum New York: 121 (1970)
SHULTZ J.
24. EVERETT M.A. Penetration of epidermis by ultraviolet rays
YEARGERS E. Photochem.photobiol. 5: 533 (1966)
SAYRE R.M.
25. FORTH W. Pharmakologie und Toxikologie
(Hrsg.) Bibliogr. Institut Mannheim 4.Aufl: 405 (1983)
26. GARBY L. Forsvarsmedicine 5: 163 (1969)
GERBER CH.
27. HAAS H.G. Osteomalacia: metabolic and quantitative
MÜLLER J. histologic studies
SCHENK R.K. Clin. Orthop. 53: 213 (1967)
28. HADDAD jr.J.G. Natural and synthetic sources of circulating
HAHN T.J. 25-hydroxy-vitamin D in man
Nature London 244: 15 (1973)

29. HAWK J.L.M. Responses of normal skin to ultraviolet radiation
PARRISH J.A. In: The science of photomedicine, Ch.8

30. HJELM M. Red cell metabolism and funktion
G.Brewer Ed. Plenum New York: 80 (1970)

31. HOLICK M.F. Regulation of cutaneous previtamin D3 photo-
MC LAUGHLIN J.A. synthesis in man
DOPPELT S.H. Science Vol.211: 590 (1981)

32. HOLLWICH F. Über die Bedeutung des Lichtes für
Lebensvorgänge
Med.Mschr.4.Jg: 686 (1950)

33. HUMPELER E. Effects of whole body UV-irradiation on oxygen
MAIRBÄURL H. delivery from the erythrocyte
HÖNIGSMANN H. Eur.J.Appl.Physiol. 49: 209 (1982)

34. JAHRMÄRKER H. Über die Aktivierung der Glykolyse in den
menschlichen Erythrozyten durch anorganisches
Phosphat
MÜNchener Habil. Schrift (1963)

35. KAIDBERG K.H. The acut effects of longwave ultraviolet
KLINGMAN A.M. radiation on human skin
J.Invest.Dermatol. 72: 253 (1979)

36. KARLSON P. Why are so many hormones steroids
Hoppe-Segler's 7.Physiol.Chemie 364:1067 (1983)

37. KERR H.H. Reduktion of humna blood O₂-affinity using
PANTELY G.A. dihydroxyaceton, phosphate and pyruvat
METCALFE J. Amer.Physiol.Soc: 478 (1979)

38. KLIGMAN A. Comments on the stratum corneum
In: The biologic effects of ultraviolet radiation
Hrsg: Urbach F.
Pergamon Press Oxford: 165 (1969)

39. KRALL M.A. Physiological effects of lowered blood oxygen-
BRISTOW J.D. affinity in dogs
WELCH J.E. Respir.Pysiol. 33: 263 (1978)
40. LAWSON D.E.M. Aspects of the metabolism and function of
DAVIE M. vitamin D
Vitamins and Hormons Vol.37: 1 (1979)
41. LICHTMANN M.A. Erythrozyte adenosinetriphosphat depletion
MILLER D.R. during hypophosphatemia in uremic subjects
FREEMAN R.B. New Engl.J.Med. 280: 240 ((1969)
42. LICHTMANN M.A. Erythrocyte glycolysis ATP and 2-3DPG concen-
MÜLLER D.R. trations in uremic subjects
J.Lab.Clin.Med. 76: 267 (1970)
43. LICHTMANN M.A. Reduced red cell glycolysis, 2-3DPG and ATP-
MILLER D.R. concentration and increased hemoglobin-oxygen
COHEN J. affinity caused by hypophosphatemia
WATERHOUSE C. Annals of Intern.Med. 74: 562 (1971)
44. LUBET Biochemie
STRYER (Hrsg.) Friedr.Vieweg und Son Braunschweig 2.Aufl.
56; 207 (1983)
45. LUND B. Mesurement of 25-OH-vitamin D in serum and
SORENSEN O.H. its relation on sunshine, age and vitamin D
intake in the Danish population
Scan.J.Clin.Lab.Invest. 39: 23 (1979)
46. MICHAL G. D-Glycerat-2-3Diphosphat
in: Begemeyer H.U.
Methods of enzymatic analyse
Bd.II; 3.Aufl. Verl.Chemie: 1478 (1983)

47. MOORE E.W. Ionized calcium in normal serum ultrafiltrates
J.Clin.Invest. 49: 318 (1970)
48. MOORE L.G. Pharmacologic stimulation of erythrocyte 2-3DPG
BREWER G.J. produktion in vivo
DELSHLEGEL F.J. Journ.of Pharm.and exper.Ther. 203; 3:
LOOKA F. 722 (1977)
49. MOSS D.W. Nomenclature and units in Enzymology
In: Begemeyer H.U.(Hrsg.)
Methods of enzymatic analyse
Bd.I 3.Aufl. Verl.Chemie: 12 (1983)
50. MUTZHAS M.F. A new apparatus with radiation energy between
HÖLZLE E. 320-460nm; physical description and dermato-
HOFMANN C. logical applications
PLEWIG G. J.Invest.Dermatolog. 76: 42 (1981)
51. MYRTLE J.F. Vitamin D: a cholecalciferolmetabolit highly
NORMAN A.W. active in promoting intestinal calcium transport
Science 171: 79 (1971)
52. NASEMANN Hautkrankheiten und venerische Infektionen
SAUERBREY Springer-Verl.Berlin 4.Aufl: 21 (1981)
53. OFFERMANN G. Vitamin D Mangel und Osteomalazie beim alten
BIELER G. Menschen
Dtsch.Med.Wschr. 103: 415 (1978)
54. OLSON R.L. Effect of anatomic location and time of
SAYRL R.M. ultraviolet erythema
EVERETT M.A. Arch.Dermatol. 93: 211 (1966)
55. PARRISH J.A. UVA; biological effects of ultraviolet radiation
(Hrsg.) with emphasis on human responses to longwave
radiation
Plenum Press New York: 3.1.1:85; 3.1.2:15
3.1.3:59; 4.2:119 (1978)

56. RAPOPORT S. The regulation of glycolysis in mammalian erythrocytes
Biochem. 4: 69 (1968)
57. RICHTER R. Klinische Chemie; Theorie und Praxis
Verl.S.Karger Basel 3.erw.Aufl: 148 (1971)
58. RIZZO S.C. Control of glycolysis in human erythrocytes
ECKEL R.E. by inorganic phosphate and sulfate
Amer.J.Physiol. 211: 429 (1966)
59. ROEDIGER E. Kreislauf und Stoffwechselfparameter bei serieller
BÜHRING M. Bestrahlung mit UVA und mit UVB.
WOLFF F. Z.Phys.Med.Baln.Med.Klim. 13: 34 (1984)
60. ROGERS S. Effect of PUVA on serum 25-OH-vitamin D
MARKS J. in psoriatics
Brit.Med.J. 10: 833 (1979)
61. ROSE J. Role of inorganic phosphate in stimulating
WARMS J. the glucose utilization of human red cells
Biochem.Biophys.Res.Commun. 15: 33 (1964)
62. ROSE I.A. Control of glycolysis in human red blood cells
WARMS J. J.Biol.Chem. 241: 4848 (1966)
63. ROSE J. Regulation of red cell glycolysis
A.Review.Exp.Eye Res. 11: 264 (1971)
64. ROTH M. Forsvarsmedicine 5; 169 (1969)
65. ROTH M. Enzymatic analyses
In: Curtis H.C.; Roth M.
Clinical Biochemistry, Principles and Methods
Verl.De Gruyter Vol I: 467 (1974)
66. SAITO T. Studies on erythrocyte glycolysis
MINAHAMI S. J.Biochem. 240: 2806 (1967)

67. SCHNELL W. Entwicklung eines digitalen Spektrometers zur
Bestimmung des theoretischen Erythems
Med.Dissert.LMU München (1985)

68. SCHRÖTER W. Erythrocyte enzymes
In: Curtis H.C. Roth M.
Clinical Biochemistry: Principl and Methods
Verl.De Gruyter Vol.II: 1179 (1974)

69. SIEGENTHALER W. Klinische Pathophysiologie
(Hrsg.) G.Thieme Verl. Stuttgart 5.Aufl: 552 (1982)

70. SNELL A.P. Ultraviolet irradiation and 25-OH-vitamin D
MC LENNAN W.J. levels in sick old people
HAMILTON J.C. Age Ageing 7: 225 (1978)

71. SOMMER-TSILENIS E. 25-OH-Colecalciferol und UV-Bestrahlung der
BEYKIRCH W. Psoriasis
KUHLEWEIN W. Z.Hautkr. 55(10): 672 (1979)

72. STAMP T.C.P. Seasonal changes in human plasma levels
ROUND J.M. of hydroxyvitamin D
Nature 247: 563 (1974)

73. STAMP T.C.B. Proc.Nutr.Soc. 34: 119 (1975)

74. SUGITA Y. Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 112: 72 (1963)

75. TOSS G. Oral vitamin D and ultraviolet radiation for
ANDERSON R. prevention of vitamin D deficiency by elderly
DIFFEY B.L. Acta Med.Scand. 212: 157 (1982)

76. TSAI H.C. Studies in the mechanism of action of vitamin D
NORMAN A.W. Fed.Proc. 31: 686 (1972)

77. TSUBOI K.K. Inorganic phosphate and enhanced glucose
FUKUNAGA K. degradation by intact erythrocytes
J.Biol.Chem. 240: 2806 (1965)

78. VALERI C. Red cell metabolism and funktion
FORTIER N. G.Brewer Ed. Plenum New York: 289 (1970)
79. VANINGA T.S. Urinary excretion pattern of serotonin and
DE BAER J.E. 5-OH-indolacetic acid from UV induced erythema
J.Invest.Dermatol. 50: 1 (1968)
80. VESTERGAARD- The transport of phosphate ions across the
BOGEND human red cell membrane
Biochem.Biophys.Acta 66: 93 (1969)
81. WASSERMANN R.H. Die physiologische Bedeutung des Vitamin D
TAYLOR A.N. abhängigen Calcium bindenden Proteins
Triangel Sandoz 12: 119 (1973)
82. WINDAUS A. Justus Liebigs Ann.Chem. 533: 118 (1938)
83. WINTROBE M. Clinical Hematology
(Hrsg.) Lea and Febiger Philadelphia 8th Ed: 75 ('81)
84. WISKEMANN A. Lichttherapie
In: Korting G.W.(Hrsg.)
Dermatologie in Praxis und Klinik
G.Thieme Verl.Stuttgart: 7.104 (1980)
85. WUCHERPFENNIG V. Zur Messung und Bemessung des Ultraviolett
Klin.Wochenschr. 21: 926 (1942)

PK $\frac{\text{I.U.}}{\text{mmol Hb}}$

VP	1.Tag			2.Tag			3.Tag		4.Tag		5.Tag		8.Tag		10.Tag		12.Tag	
	9 ⁰⁰	14 ⁰⁰	17 ⁰⁰	9 ⁰⁰	14 ⁰⁰	17 ⁰⁰	9 ⁰⁰	14 ⁰⁰	9 ⁰⁰	14 ⁰⁰	9 ⁰⁰	14 ⁰⁰	9 ⁰⁰	14 ⁰⁰	9 ⁰⁰	14 ⁰⁰	9 ⁰⁰	14 ⁰⁰
1	698	576	646	703	663	747	609	714	640	683	798	672	708	650	829	763	720	714
2	713	695	725	781	766	777	700	685	718	798	737	792	743	769	711	840	731	643
3	697	714	758	720	638	686	746	767	745	680	704	788	803	827	761	735	689	739
4	704	696	668	715	771	674	662	657	732	695	681	733	780	721	640	786	667	741
5	682	730	692	672	673	688	715	686	684	716	715	664	803	768	624	665	-	-
6	674	775	812	625	785	761	634	677	645	647	660	734	700	668	650	691	-	-
7	577	682	760	726	771	734	-	684	646	680	623	730	660	628	644	524	-	-
8	718	671	644	611	695	638	640	607	656	715	726	649	610	619	605	618	-	-
9	646	764	758	583	650	788	691	820	640	820	731	708	620	767	736	702	684	780
10	662	582	682	622	736	724	653	729	662	700	660	667	630	688	689	673	700	684
11	650	730	761	721	735	735	783	789	679	738	890	811	812	896	740	773	863	803
12	687	787	756	696	750	717	782	828	708	760	760	807	674	829	682	626	868	634
13	686	734	729	673	823	780	728	737	789	846	813	658	850	841	883	853	864	835
14	696	798	565	700	669	721	609	660	684	718	664	703	689	742	706	674	620	628
15	976	914	873	873	830	915	954	973	860	896	864	860	795	885	882	895	921	885
16	826	938	775	878	829	860	786	1007	890	1002	904	893	932	1016	930	928	988	992

VP	1.Tag			2.Tag			3.Tag		4.Tag		5.Tag		8.Tag		10.Tag		12.Tag	
	9 ⁰⁰	14 ⁰⁰	17 ⁰⁰	9 ⁰⁰	14 ⁰⁰	17 ⁰⁰	9 ⁰⁰	14 ⁰⁰	9 ⁰⁰	14 ⁰⁰	9 ⁰⁰	14 ⁰⁰	9 ⁰⁰	14 ⁰⁰	9 ⁰⁰	14 ⁰⁰	9 ⁰⁰	14 ⁰⁰
1	656	581	650	651	672	653	684	663	631	606	611	703	690	706	701	652	616	638
2	602	530	611	781	594	681	628	618	582	533	578	622	666	636	577	625	568	622
3	510	542	586	581	561	602	645	577	540	564	665	544	602	625	540	536	540	633
4	688	591	687	715	705	713	722	670	646	600	682	680	649	716	629	657	582	686
5	731	676	730	677	690	710	652	630	633	588	715	679	680	622	680	621	687	681
6	689	676	695	716	707	637	644	657	664	680	660	761	736	742	670	735	748	752
7	562	572	565	584	549	576	-	551	601	587	623	605	626	628	544	553	566	532
8	742	724	743	693	680	644	619	609	660	620	596	682	825	619	642	649	688	657
9	588	608	597	540	599	570	558	581	593	629	529	598	646	643	632	668	719	778
10	544	502	550	588	568	557	544	574	666	556	590	676	612	592	598	602	676	665
11	638	755	710	705	677	624	683	702	576	658	730	590	808	762	746	778	628	674
12	532	697	632	644	577	558	591	618	675	603	580	561	643	626	625	558	666	565
13	671	532	621	858	637	576	681	621	623	622	682	566	648	704	731	645	618	716
14	766	604	668	721	688	836	608	646	705	736	788	590	684	673	655	605	636	621
15	684	752	654	836	702	638	656	705	660	738	680	578	659	728	621	638	633	690
16	649	703	560	678	703	611	660	678	697	724	639	574	694	679	621	640	636	656

Anorg. Phosphor

mmol
l

VP	1.Tag			2.Tag			3.Tag		4.Tag		5.Tag		8.Tag		10.Tag		12.Tag	
	9 ⁰⁰	14 ⁰⁰	17 ⁰⁰	9 ⁰⁰	14 ⁰⁰	17 ⁰⁰	9 ⁰⁰	14 ⁰⁰	9 ⁰⁰	14 ⁰⁰	9 ⁰⁰	14 ⁰⁰	9 ⁰⁰	14 ⁰⁰	9 ⁰⁰	14 ⁰⁰	9 ⁰⁰	14 ⁰⁰
1	1,02	1,47	1,31	1,40	1,40	1,53	1,06	1,36	1,23	1,87	1,51	1,37	1,24	1,61	1,17	1,75	1,33	1,37
2	1,19	1,41	1,37	1,31	1,47	1,67	1,17	1,65	1,29	1,63	1,58	1,47	1,34	1,60	1,12	1,13	1,69	1,60
3	1,34	1,94	1,43	1,61	1,68	1,83	1,30	1,60	1,26	1,77	1,47	1,33	1,46	1,60	1,23	1,57	1,26	1,49
4	1,18	1,54	1,60	1,43	1,26	1,53	1,45	1,33	1,55	1,40	1,56	1,18	1,17	1,40	1,34	1,53	1,19	1,34
5	1,13	1,47	1,62	1,24	1,40	1,45	1,06	1,55	1,25	1,47	1,06	1,51	1,34	1,47	1,13	1,41	1,67	1,67
6	1,09	1,61	1,80	1,04	1,62	1,67	0,99	1,67	1,11	1,48	1,11	1,46	1,26	1,66	1,38	1,48	1,62	1,63
7	1,33	1,40	1,25	1,59	1,27	1,46	1,38	1,55	1,47	1,42	1,29	1,32	1,47	1,60	1,20	1,47	1,57	1,49
8	1,54	1,40	1,77	1,81	1,67	1,57	1,76	1,62	1,43	1,18	1,59	1,48	1,38	1,47	1,74	1,33	2,15	1,67
9	1,11	1,44	-	1,16	1,07	1,17	1,29	0,98	1,08	1,16	1,09	1,36	1,02	1,84	1,31	1,28	1,44	1,34
10	1,06	1,29	-	0,80	1,17	0,99	1,24	1,13	1,02	1,36	1,17	1,38	1,15	1,04	1,40	1,34	1,44	1,57
11	1,19	1,38	-	1,36	1,52	1,72	1,36	1,47	1,09	1,22	1,22	1,39	1,13	1,23	1,11	1,43	1,22	1,40
12	1,30	1,41	-	1,23	1,70	1,54	1,22	1,45	1,32	1,42	1,59	1,65	1,19	1,45	1,34	1,64	1,59	1,67
13	1,26	1,61	1,74	1,47	1,49	1,47	1,43	1,60	1,04	1,33	1,47	1,33	1,40	1,37	1,22	1,40	1,53	1,33
14	1,19	1,40	1,08	1,75	1,16	1,40	1,25	1,44	1,16	1,44	1,14	1,29	1,18	0,96	1,14	1,60	1,19	1,22
15	1,38	1,19	1,16	1,13	1,09	1,19	1,32	1,08	1,14	1,33	1,32	1,36	1,11	1,26	1,40	1,16	1,35	1,13
16	1,26	1,60	1,87	1,18	1,58	1,74	1,23	0,89	1,32	0,93	1,23	0,82	1,94	1,14	1,53	0,99	1,19	0,80

VP	1.Tag			2.Tag			3.Tag			4.Tag			5.Tag			8.Tag			10.Tag			12.Tag		
	9 ⁰⁰	14 ⁰⁰	17 ⁰⁰	9 ⁰⁰	14 ⁰⁰	17 ⁰⁰	9 ⁰⁰	14 ⁰⁰		9 ⁰⁰	14 ⁰⁰		9 ⁰⁰	14 ⁰⁰		9 ⁰⁰	14 ⁰⁰		9 ⁰⁰	14 ⁰⁰		9 ⁰⁰	14 ⁰⁰	
1	4,69	4,90	4,92	5,46	4,98	4,97	4,20	4,71		4,99	5,24	5,00	4,35	5,10	5,87		4,75	5,19				4,76	4,94	
2	4,93	4,19	4,62	5,48	5,00	2,83	5,52	5,21		5,12	4,82	5,38	3,80	5,35	4,85		4,84	4,99				4,73	4,85	
3	4,61	5,50	4,76	5,49	5,88	5,05	5,18	5,23		4,12	4,98	5,26	4,47	5,47	5,62		4,64	5,41				4,78	4,28	
4	4,31	4,65	4,49	5,42	4,42	4,38	4,43	4,51		4,88	5,15	5,62	3,88	4,35	4,84		4,79	4,88				5,36	4,31	
5	5,29	5,05	5,64	4,66	4,87	4,84	4,24	4,90		4,13	5,20	4,04	5,58	4,65	4,45		4,94	4,76				4,33	4,26	
6	4,94	5,15	5,08	5,22	5,50	5,21	4,49	4,83		4,70	4,29	4,73	4,54	5,57	5,59		4,87	5,02				5,24	4,01	
7	4,89	4,82	5,58	5,61	4,76	5,25	4,78	5,86		5,14	5,16	4,57	5,39	5,04	4,90		4,87	5,14				4,41	5,45	
8	5,75	4,53	4,95	4,88	5,34	4,42	4,66	4,93		4,92	4,27	5,11	4,92	5,25	4,48		4,43	4,66				4,56	5,64	
9	4,24	4,96	-	4,65	4,31	4,98	5,07	4,66		4,54	4,66	4,69	4,87	5,41	5,57		3,88	5,60				5,41	4,49	
10	4,26	4,88	-	4,56	5,07	4,83	4,52	5,16		5,31	5,11	5,22	5,28	5,02	4,37		4,52	5,74				4,82	6,08	
11	4,74	4,66	-	4,50	4,93	5,18	4,73	5,09		4,91	4,95	4,78	4,84	4,80	4,88		4,25	5,68				4,31	5,20	
12	4,12	5,00	-	5,13	5,31	5,19	5,07	4,99		4,71	4,56	4,84	5,20	4,04	5,07		4,19	4,30				5,70	5,95	
13	4,78	5,62	5,02	5,02	5,26	4,49	4,00	4,19		4,55	4,22	4,28	4,50	5,00	4,47		4,65	5,45				4,59	5,91	
14	4,75	4,17	3,23	7,59	4,65	4,91	4,16	4,98		4,78	4,74	3,96	4,13	4,12	4,48		4,80	4,90				4,75	5,17	
15	5,06	5,29	5,53	4,76	5,37	4,16	4,18	4,05		4,78	4,59	4,16	4,60	4,43	5,29		4,60	4,02				4,34	4,74	
16	5,25	4,43	4,36	4,83	4,96	4,04	4,42	4,03		4,63	5,77	5,19	5,18	5,34	3,90		4,48	4,05				3,71	3,57	

VP	Sex	Age	Gew. (kg) Gr. (cm)	Haar- farbe	Krankheiten 6 Monate	Medikamente	Raucher Zig./d	vorherige Bestrahlung	Diät	Ovulations- hemmer	Menses bei Versuch
1	m	22	72/192	braun	Angina ton- sillaris	Penicillin vor 4 Mon.	20	-/-	-/-		
2	w	26	55/170	blond	-/-	-/-	20	-/-	-/-	-/-	-/-
3	m	28	83/188	braun	-/-	-/-	5	3 x UVB 50mJ/cm ²	-/-		
4	m	32	80/183	braun	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-		
5	m	40	79/175	blond	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-		
6	w	22	47/165	braun	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
7	m	24	78/185	braun	-/-	-/-	5	-/-	-/-		
8	m	25	67/178	blond	-/-	-/-	20	-/-	-/-		
9	m	28	82/188	braun	-/-	-/-	5	-/-	-/-		
10	m	23	83/185	blond	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-		
11	w	23	53/162	blond	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	ja
12	m	24	77/183	braun	-/-	-/-	5	-/-	-/-		
13	w	21	53/172	blond	-/-	Delimmun ^R	-/-	-/-	-/-	ja	-/-
14	m	26	70/186	braun	Strumektomie vor 4 Monaten	Thyroxin	10	-/-	-/-		
15	w	23	53/159	blond	-/-	-/-	15	-/-	-/-	ja	-/-
16	m	29	82/187	braun	Diab. mell. Typ I	Insulin	30	-/-	Diab.		

Am Schluß dieser Arbeit möchte ich besonders danken:

Herrn Prof. Dr. med. W. Schnizer

für die Überlassung und die wohlwollende
Unterstützung der Arbeit

Herrn Prof. Dr. med. H. Drexel

für die Aufnahme in seinem Institut

Herrn Priv. Doz. Dr. med. R. Breit

für die Bereitstellung des HVA-Bestrahlungsgerätes

Herrn Priv. Doz. Dr. H. Pratzel

daß er in der Versuchs- und Planungsphase
hilfreich und ausdauernd betreute

Herrn Priv. Doz. Dr. J. Kleinschmidt

für die technische Beratung im HVB-Versuchsteil, ferner bei der Statistik.

l e b e n s l a u f

Rainer Josef Leo S t e i n h a r d

- 13.10.1958 geboren als Sohn des Ingenieurs
Hermann Steinhard und seiner Ehe-
frau Inngard
- 1966 - 69 Besuch der Volksschule Friedberg
- 1969 - 78 Gymnasium und Internat des Bene-
diktinerklosters Ettal
- 1979 - 86 Studium der Medizin an der LMU München
- Juni 1986 Approbation
- Seit Aug. 86 Assistent der I. Med. Abteilung im
Krankenhaus des Roten Kreuzes, München

